

PCT

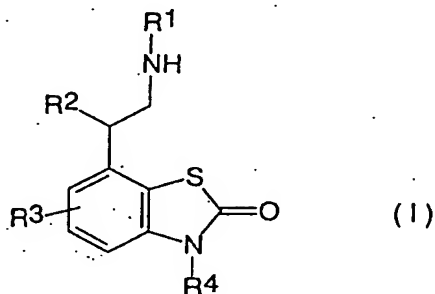
世界知的所有権機関
国際事務局
特許力条約に基づいて公開された国際特許願



(51) 国際特許分類6 C07D 277/68, A61K 31/425	A1	(11) 国際公開番号 WO99/09018 (43) 国際公開日 1999年2月25日(25.02.99)
(21) 国際出願番号 PCT/JP98/03628 (22) 国際出願日 1998年8月14日(14.08.98) (30) 優先権データ 特願平9/219592 1997年8月14日(14.08.97) JP (71) 出願人(米国を除くすべての指定国について) 麒麟麦酒株式会社 (KIRIN BEER KABUSHIKI KAISHA)[JP/JP] 〒104-8288 東京都中央区新川二丁目10番1号 Tokyo, (JP) (72) 発明者; および (75) 発明者/出願人(米国についてのみ) 鈴木秀文(SUZUKI, Hidefumi)[JP/JP] 新藤一敏(SHINDO, Kazutoshi)[JP/JP] 上野哲寛(UENO, Akihiro)[JP/JP] 武井正夫(TAKEI, Masao)[JP/JP] 深町弘見(FUKAMACHI, Hiromi)[JP/JP] 〒370-1295 群馬県高崎市宮原町3番地 麒麟麦酒株式会社 医薬探索研究所内 Gunma, (JP) 比嘉辰雄(HIGA, Tatsuo)[JP/JP] 〒903-0804 沖縄県那覇市首里石嶺町1-62-3 首里住宅7-202 Okinawa, (JP)	(74) 代理人 弁理士 佐藤一雄, 外(SATO, Kazuo et al.) 〒100-0005 東京都千代田区丸の内三丁目2番3号 富士ビル323号 協和特許法律事務所 Tokyo, (JP) (81) 指定国 CA, JP, US, 欧州特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE). 添付公開書類 国際調査報告書	
<p>(54) Title: BENZOTHAZOLONE DERIVATIVES HAVING SELECTIVE β_2 RECEPTOR AGONIST ACTIVITY</p> <p>(54) 発明の名称 選択的なβ_2受容体アゴニスト活性を有するベンゾチアゾロン誘導体</p> <p>(57) Abstract</p> <p>Compounds which selectively stimulate a β_2 receptor present in the airway smooth muscle in a short time. The compounds are benzothiazolone derivatives represented by general formula (I) or pharmacologically acceptable salts or solvates thereof. The compounds represented by formula (I) are useful for the treatment of respiratory diseases, inflammatory diseases, and allergic diseases.</p> <div style="text-align: center;"> </div>		

(57)要約

本発明は、気道平滑筋に存在する $\beta 2$ 受容体を選択的にかつ短時間で刺激する化合物の提供をその目的とする。本発明による化合物は、下記式(I)のベンゾチアゾロン誘導体またはその薬学上許容される塩もしくは溶媒和物である。式(I)の化合物は、呼吸器系疾患、炎症性疾患、およびアレルギー性疾患の治療に有用である。



PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第一頁に掲載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード(参考情報)

AL アルバニア
AM アルメニア
AT オーストリア
AU オーストラリア
AZ アゼルバイジャン
BA ボスニア・ヘルツェゴビナ
BB バルバドス
BE ベルギー
BF ブルキナ・ファソ
BG ブルガリア
BJ ベナン
BR ブラジル
BY ベラルーシ
CA カナダ
CF 中央アフリカ
CG コンゴ
CH スイス
CI コートジボアール
CM カメルーン
CN 中国
CU キューバ
CY キプロス
CZ チェッコ
DE ドイツ
DK デンマーク
EE エストニア
ES スペイン

FI フィンランド
FR フランス
GA ガボン
GB 英国
GD グレナダ
GE グルジア
GH ガーナ
GM ガンビア
GN ギニア・ビサウ
GW ギニア・ビサウ
GR ギリシャ
HR クロアチア
HU ハンガリー
ID インドネシア
IE アイルランド
IL イスラエル
IN インド
IS アイスランド
IT イタリア
JP 日本
KE ケニア
KG キルギスタン
KP 北朝鮮
KR 韓国
KZ カザフスタン
LC セントルシア
LI リヒテンシュタイン

LK スリ・ランカ
LR リベリア
LS レソト
LT リトアニア
LU ルクセンブルグ
LV ラトヴィア
MC モナコ
MD モルドヴァ
MG マダガスカル
MK マケドニア旧ユーゴスラヴィア
共和国
ML マリ
MN モンゴル
MR モーリタニア
MW マラウイ
MX メキシコ
NE ニジェール
NL オランダ
NO ノルウェー
NZ ニュージーランド
PL ポーランド
PT ポルトガル
RO ルーマニア
RU ロシア
SD スーダン
SE スウェーデン
SG シンガポール

SI スロヴェニア
SK スロヴァキア
SL シェラ・レオネ
SN セネガル
SZ スワジランド
TD チャード
TG トーゴ
TJ タジキスタン
TM トルクメニスタン
TR トルコ
TT トリニダード・トバゴ
UA ウクライナ
UG ウガンダ
US 米国
UZ ウズベキスタン
VN ヴェトナム
YU ユーゴスラビア
ZW ジンバブエ

明 細 書

選択的な $\beta 2$ 受容体アゴニスト活性を有するベンゾチアゾロン誘導体

発明の背景発明の分野

本発明は、気道平滑筋に存在する $\beta 2$ 受容体を刺激するベンゾチアゾロン誘導体およびそれを有効成分として含有してなる医薬に関し、更に詳細には、呼吸器疾患治療剤、アレルギー性疾患治療剤、および炎症性疾患治療剤に関する。

背景技術

近年、喘息は可逆性気道閉塞・非特異的気道過敏性・慢性気道炎症で特徴づけられる障害であるとされている (NHLBI/WHO Workshop Report: Global Strategy for Asthma Management and Prevention, National Institute of Health, National Heart, Lung, and Blood Institute Publication Number 95-3659(1995))。そして、気管支喘息における慢性気道炎症の多くはアレルギー性炎症であると考えられるが、その炎症の成り立ちについては不明である。

これらの治療薬として抗炎症性作用を有する薬剤が重要視されてきており、ステロイド剤を用いた治療がなされている。しかし、ステロイド剤には副作用の問題がある (診断と治療、81巻、1185-1188頁、1993年)。一方、アレルギー性鼻炎はI型アレルギーに分類され、肥満細胞から放出されるヒスタミンなどの化学伝達物質が重要な役割を果たしていると考えられている。これらの治療薬として抗ヒスタミン薬などが使われているが、十分に満足できる治療薬は見出されていない (最新医学、49巻、576-591、1994年)。アレルギー性皮膚炎は大きくアトピー性皮膚炎とアレルギー性接触皮膚炎に分けられるが、十分に満足できる治療薬は見出されていない。

気管支喘息は、可逆性の気道閉塞によって特徴づけられる疾患であり、気道閉塞は、1) 気道平滑筋の攣縮、2) 粘膜浮腫、3) 気道粘液の過剰分泌、の三因子によって構成されると考えられている。この中で気道平滑筋の攣縮に対しては、気管支拡張剤である β 受容体刺激剤が有効であることが知られている。しかし、これらの β 受容体刺激剤は心循環系へも作用するため、虚血性心疾患、不整脈、高血圧患者への使用が制限される等の問題がある（診断と治療、81巻、1195-1204頁）。この問題を解決するために、心筋に存在する $\beta 1$ 受容体に対してよりも気道平滑筋に存在する $\beta 2$ 受容体に対して相対的に大きな刺激活性を有する化合物、即ち、選択的 $\beta 2$ 受容体刺激剤、は副作用の少ない、優れた気管支拡張剤として有効であることが期待される。

更に、喘息治療のガイドラインである米国の国立心肺血液研究所と世界保健機構のGlobal Initiative for Asthma（牧野荘平監修：喘息管理の国際指針、喘息管理・予防のグローバルストラテジー、NHLBI/WHOワークショップレポート（日本語翻訳版）国際医学出版、1995）は、喘息治療における一過性の自覚症状の改善を目的とした対症救急薬として短時間作用性吸入 β 刺激薬の使用を推奨している。以上のことから、 $\beta 1$ 受容体に対してよりも $\beta 2$ 受容体に対して相対的に大きな活性を有する短時間作用性の選択的 $\beta 2$ 受容体刺激剤が望まれている。

一方、気管支喘息では、非発作時（慢性喘息）の治療において、ピークフローモニタリングを指標の1つとし、治療前の重症度（ステップ1から4に分類され、順に重症度が高くなる）を基にした段階的治療法が行われている。また、発作時（急性喘息）の治療法では、発作強度別の治療法が行われている。

具体的には、非発作時（慢性喘息）の治療法として、ステップ1では短時間作用型 $\beta 2$ 受容体刺激剤の吸入を適宜行うこと、ステップ2～4では吸入抗炎症剤や経口 $\beta 2$ 受容体刺激剤等の使用の他に必要に応じて短時間作用型 $\beta 2$ 受容体刺

刺激剤の吸入を3～4回/日以下で行うことが推奨されている。また、発作時の治療法として、 β 2受容体刺激剤の吸入療法が行われる他にエピネフリンの皮下注射が行われている。

しかし、エピネフリンは β 2受容体刺激効果だけではなく交感神経全体を刺激するために心循環系の障害がある場合には使用できないという問題がある。更に、 β 2受容体のみならず β 1受容体も同様に刺激するため、心疾患患者に投与する場合には副作用の生じるおそれがあった。以上のことから、短時間作用性であり、且つ選択性の高い β 2受容体刺激剤が期待されている。

しかしながら、上記の短時間作用性を特徴とした選択的 β 2受容体刺激剤は、本発明者らが知る限り報告されていない。

例えば、市販されている代表的な既存薬の有効成分のうち、イソプロテレノール（4-〔ヒドロキシ-2-〔（1-イソプロピル）アミノ〕エチル〕-1,2-ジヒドロキシベンゼン）は、短時間作用性の β 受容体刺激剤であるが、 β 2受容体に対する選択性は低い（Euro. J. Pharmacol., vol. 227, 403-409(1992); Life Science, vol. 52, 2145-2160(1993)）。サルブタモール（2-*t*-ブチルアミノ-1-（4-ヒドロキシ-3-ヒドロキシメチルフェニル）エタノールヘミサルフェート）は β 2受容体に対する選択性は高いが、短時間作用性ではない（Euro. J. Pharmacol., vol. 227, 403-409(1992); Life Science, vol. 52, 2145-2160(1993)）。また、フォルモテロール（N-〔2-ヒドロキシ-5-〔（RS）-1-ヒドロキシ-2-〔（RS）-2-（4-メトキシフェニル）-1-メチルエチルアミノ〕エチル〕フェニル〕フォルムアミドヘミフマレートモノハイドレート）は、 β 2受容体に対する選択性はサルブタモールに比較して更に高いが長時間作用性である（Life Science, vol. 52, 2145-2160(1993)）。

また、Journal of Medical Chemistry, vol. 30, No. 7, 1166-1176(1987)、米国特許第4554284号、WO92/08708号、WO93/23385号、W

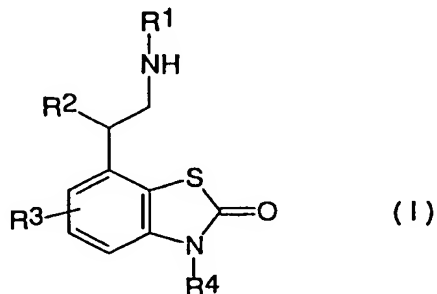
093/24473号、WO95/04047号、WO95/25104号、WO97/10227号、WO97/23470号、および米国特許第5648370号には、ベンゾチアゾロン誘導体が開示されている。

発明の概要

本発明者らは選択的 $\beta 2$ 受容体刺激活性を有し、かつ作用時間が短い化合物を探索した。その結果、低級アルキル基により置換されたエタノールアミン構造を7位に有するある種のベンゾチアゾロン誘導体が、気道平滑筋に存在する $\beta 2$ 受容体を選択的に刺激し、かつ作用時間が短いこと、ヒト肥満細胞からの脱顆粒反応を抑制すること、ヒト肥満細胞からのTNF- α 産生を抑制すること、マウスおよびモルモットの気管支を *in vivo* において弛緩させること、そしてマウスおよびラットにおいて受動皮膚アナフィラキシーおよびヒスタミンによる皮膚反応を抑制すること等を見いだした。本発明はかかる知見に基づくものである。

従って、本発明は、 $\beta 2$ 受容体を選択的にかつ短時間で刺激する新規な化合物を提供することをその目的とする。また、本発明は、この新規な化合物を含有する医薬組成物を提供することをその目的とする。

そして、本発明によるベンゾチアゾロン誘導体は、下記式(I)で表わされる化合物並びに薬理学上許容されるそれらの塩および溶媒和物である：



(上記式中、 R^1 は水素原子、または1以上のハロゲン原子、水酸基、シアノ基、ニトロ基、もしくはアミノ基により置換されていてもよい炭素数1～4のアルキル基、炭素数2～4のアルケニル基、もしくは炭素数2～4のアルキニル基を表し、 R^2 および R^3 は、同一または異なってもよく、水素原子、ハロゲン原子、水酸基、シアノ基、ニトロ基、アミノ基、または1以上のハロゲン原子、水酸基、シアノ基、ニトロ基、もしくはアミノ基により置換されていてもよい炭素数1～4のアルコキシ基を表し、 R^4 は、水素原子、または1以上のハロゲン原子、水酸基、シアノ基、ニトロ基、もしくはアミノ基により置換されていてもよい炭素数1～4のアルキル基を表すが、但し、 R^1 、 R^2 および R^4 が水素原子を表し、かつ R^3 が水素原子、4-水酸基、または4-メトキシ基を表す場合、 R^1 がメチル基を表し、 R^2 および R^4 が水素原子を表し、かつ R^3 が4-水酸基を表す場合、並びに R^1 がn-プロピル基を表し、かつ R^2 、 R^3 および R^4 が水素原子を表す場合を除く)。

また、本発明による医薬組成物は、式(I)の化合物またはその薬理学上許容しうる塩もしくは溶媒和物を含むもの、である。

本発明による化合物は、従来の薬剤に比べて優れた薬効を有し、更に、心疾患患者への副作用の恐れがなく、速効性にも優れている。従って、本発明によれば、人体に安全な呼吸器系疾患、炎症性疾患、および／またはアレルギー性疾患治療剤が提供される。

図面の簡単な説明

図1は、海綿由来の4-ヒドロキシ-7-[1-(1-ヒドロキシ-2-メチルアミノ)エチル]-1,3-ベンゾチアゾール-2(3H)-オン(実施例1)のプロトン磁気共鳴スペクトル(500MHz、重水中)を示す。

図2は、海綿由来の4-ヒドロキシ-7-[1-(1-ヒドロキシ-2-メチルアミノ)エチル]-1,3-ベンゾチアゾール-2(3H)-オン(実施例1)

の ^{13}C 磁気共鳴スペクトル（500MHz、重水中）を示す。

図3は、本願化合物による摘出モルモット気管支弛緩作用を表す。●：実施例2の化合物、△：サルブタモール、□：フォルモテロール、○：イソプロテレノール。

図4は、本願化合物の摘出モルモット気管支弛緩作用の持続時間を表す。●：実施例2の化合物、△：サルブタモール、□：フォルモテロール、○：イソプロテレノール。

図5は、麻酔下マウスのアセチルコリンによる気管支収縮作用に対する本願化合物の効果を表す。●：コントロール（無投与）、□：実施例2の化合物（ $1\mu\text{g}/\text{kg}$ ）、△：実施例2の化合物（ $10\mu\text{g}/\text{kg}$ ）、○：実施例2の化合物（ $30\mu\text{g}/\text{kg}$ ）。

図6は、ヒト肥満細胞からの脱顆粒反応に対する本願化合物（実施例2）の効果を表す。

図7は、ヒト肥満細胞からの $\text{TNF}-\alpha$ 産生に対する本願化合物の効果を表す。

図8は、4-ヒドロキシー-7-[1-(1-ヒドロキシー-2-メチルアミノ)エチル]-1,3-ベンゾチアゾール-2(3H)-オンの合成経路の概略を示す。

発明の具体的説明

式(I)の化合物

本明細書において、アルキル基、アルケニル基、アルキニル基、およびアルコキシ基は、直鎖または分岐鎖であることができる。

本明細書において、 R^1 、 R^4 および R^{1a} が表す炭素数1～4のアルキル基の例としては、メチル、エチル、*n*-プロピル、*i*-プロピル、*n*-ブチル、*i*-ブチル、*t*-ブチル、および*s*-ブチル基が挙げられる。

本明細書において、 R^1 が表す炭素数2～4のアルケニル基の例としては、ビ

ニル（エテニル）、1-プロペニル、アリル（2-プロペニル）、イソプロペニル、2-ブテニル、および1, 3-ブタジエニル基が挙げられる。

本明細書において、 R^1 が表す炭素数2～4のアルキニル基の例としては、エチニル、1-プロピニル、および2-プロピニル基が挙げられる。

本明細書において、 R^2 および R^3 が表す炭素数1～4のアルコキシ基の例としては、メトキシ、エトキシ、n-プロポキシ、i-プロポキシ、n-ブトキシ、i-ブトキシ、t-ブトキシ、およびs-ブトキシ基が挙げられる。

アルキル基、アルケニル基、アルキニル基、およびアルコキシ基の1以上の水素原子は、ハロゲン原子、水酸基、シアノ基、ニトロ基、もしくはアミノ基（好ましくは、ハロゲン原子）により置換されていてもよく、置換されたアルキル基、アルケニル基、アルキニル基、およびアルコキシ基の例としては、ジフルオロメチル、トリフルオロメチル、2, 2, 2-トリフルオロエチル、およびトリフルオロメトキシ基が挙げられる。

本明細書において、ハロゲン原子とは、フッ素原子、塩素原子、臭素原子、ヨウ素原子を言うものとする。

式（I）において、 R^1 は、好ましくは、水素原子、または1以上のハロゲン原子、水酸基、シアノ基、ニトロ基、もしくはアミノ基により置換されていてもよい炭素数1～4のアルキル基を表わし、更に好ましくは、水素原子または1以上のハロゲン原子により置換されていてもよい炭素数1～4のアルキル基（特に、メチル基）を表す。

また、一般式（I）において R^2 は、好ましくは、水酸基を表す。

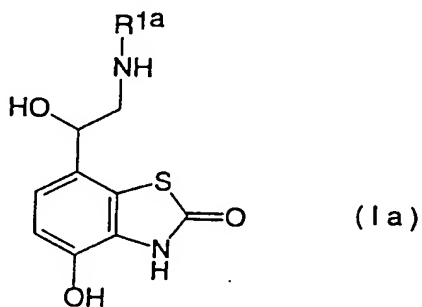
式（I）において R^3 は、好ましくは、水素原子、または1以上のハロゲン原子により置換されていてもよい炭素数1～4のアルコキシ基を表し、更に好ましくは、水酸基またはメトキシ基を表す。 R^3 は、好ましくは、ベンゾチアゾロン環の4位に位置することができる。

式 (I) において R^4 は、好ましくは、水素原子、または 1 以上のハロゲン原子により置換されていてもよい炭素数 1～4 のアルキル基を表し、更に好ましくは水素原子である。

本発明による化合物には、光学異性体が存在し得るが、そのいずれの異性体およびそれらの混合物もまた本発明に包含される。

本発明による化合物の好ましい化合物群としては、 R^1 が、水素原子、または 1 以上のハロゲン原子、水酸基、シアノ基、ニトロ基、もしくはアミノ基により置換されていてもよい炭素数 1～4 のアルキル基を表わし、 R^2 が水酸基を表し、 R^3 が、水素原子、ハロゲン原子、水酸基、または 1 以上のハロゲン原子により置換されていてもよい炭素数 1～4 のアルコキシ基を表し、 R^4 が、水素原子、または 1 以上のハロゲン原子により置換されていてもよい炭素数 1～4 のアルキル基を表す式 (I) の化合物が挙げられる。

本発明による化合物の更に好ましい化合物としては、下記式 (I a) の化合物が挙げられる：



(上記式中、 R^{1a} は水素原子、または 1 以上のハロゲン原子、水酸基、シアノ基、ニトロ基、もしくはアミノ基により置換されていてもよい炭素数 1～4 のアルキル基を表わす)。

式 (I a) において R^{1a} は、好ましくは、水素原子または 1 以上のハロゲン

原子により置換されていてもよい炭素数1～4のアルキル基（特に、メチル基）を表す。

本発明による化合物の最も好ましい化合物としては、4-ヒドロキシ-7-[1-(1-ヒドロキシ-2-メチルアミノ)エチル]-1,3-ベンゾチアゾール-2(3H)-オンが挙げられる。

本発明による化合物はその薬理学上許容される塩とすることができる。このような塩としては、薬理学上許容される非毒性塩が挙げられる。好ましい例としてはナトリウム塩、カリウム塩またはカルシウム塩のようなアルカリ金属またはアルカリ土類金属の塩、フッ化水素酸塩、塩酸塩、臭化水素酸塩、ヨウ化水素酸塩のようなハロゲン化水素酸塩、硝酸塩、過塩素酸塩、硫酸塩、リン酸塩などの無機酸塩、メタンスルホン酸塩、トリフルオロメタンスルホン酸塩、エタンスルホン酸塩のような低級アルキルスルホン酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、p-トルエンスルホン酸塩のようなアリースルホン酸塩、フマル酸塩、コハク酸塩、クエン酸塩、酒石酸塩、シュウ酸塩、マレイン酸塩、酢酸、リンゴ酸、乳酸、アスコルビン酸のような有機酸塩、およびグルタミン酸塩、アスパラギン酸塩のようなアミノ酸塩などが挙げられる。

本発明による化合物は、また、溶媒和物（例えば、水和物）とすることができる。

式(I)の化合物の製造

式(I)の化合物の代表的化合物である式(Ia)の化合物は、海中に生息する海綿から抽出操作により単離・精製することができる。具体的には、海綿をブレンダー等を用いて破碎し、破碎物を凍結乾燥し、これをメタノール、エタノール、アセトン、あるいは、メタノールとクロロホルムの混合溶媒などで抽出する。凍結乾燥の操作を省略し、海綿の破碎物をそのまま抽出操作に付してもよい。抽出操作において、適当な溶媒による向流分配法を実施してもよい。次いで、上記

の抽出液を適当な吸着剤（例えばアルミナ、シリカゲル、活性炭、イオン交換樹脂、「ダイアイオンHP20」（三菱化学製））などにかけ、目的化合物を吸着させた後、適当な溶媒で溶出して、これを減圧濃縮乾固することにより、本発明による化合物を得ることができる。

本発明による化合物を更に精製するには、上記の抽出及び吸着操作に必要な応じてゲル濾過法、高速液体クロマトグラフィーなどを必要回数組み合わせてもよい。具体的には、シリカゲルなどの吸着剤、「セファデックスLH-20」（ファルマシア社製）などのゲル濾過剤によるカラムクロマトグラフィー、「YMCパック」（山村科学社製）などによる高速液体クロマトグラフィーを、更に向流分配法と組み合わせることができる。

式（I）の化合物の代表化合物である式（Ia）の化合物は、図8に記載のスキームに従って合成することもできる。

スキーム中の式（II）の化合物は、例えば、市販の2-メトキシ-5-メチルフェニルチオウレアから出発して合成することができる。また、式（II）の化合物は、例えば、Journal of Medicinal Chemistry, vol. 30, pp1166-1176(1987) および特開昭61-68746号公報に記載の方法に従い、2-メトキシ-5-メチルアニリンから合成することもできる（これらの文献は引用することにより本願明細書の一部とされる）。

スキーム中の工程（i）は式（II）で示される化合物を酸化する工程である。式（II）で示される化合物を、適当な溶媒（例えばアセトニトリル、メタノール、エタノール等の極性溶媒、好ましくはメタノール）中で、セリウムアンモニウムナイトレイトとともに0℃～100℃、好ましくは40～60℃で、5分間～6時間、好ましくは15分間～1時間、反応させることにより式（III）で示される化合物を得る。

ここで、式（II）中、 R^5 および R^6 は、水酸基の保護基を表し、 R^7 は、炭

炭素数1～4のアルキル基を表す。水酸基の保護基としては、例えば、エステル系保護基（例えば、アセチル基、トリフルオロアセチル基、ベンゾイル基、ピバロイル基、メトキシカルボニル基等）、エーテル系保護基（例えば、ベンジル基、パラメトキシベンジル基、メトキシメチル基、炭素数1～4のアルキル基等）、シリル系保護基（例えば、*t*-ブチルジメチルシリル基、トリイソプロピルシリル基等）が挙げられる。

工程(ii)は式(III)で示される化合物のホルミル基をシアンヒドリンに変換する工程である。式(III)で示される化合物を不活性溶媒（例えば、ジクロロメタン、クロロホルム、四塩化炭素等のハロゲン化炭化水素類、好ましくはジクロロメタン）中で、トリメチルシリルシアニド、適当なルイス酸、好ましくはヨウ化亜鉛と、0℃～100℃、好ましくは室温で、5分間～6時間、好ましくは10分間～15分間、反応させることにより式(IV)で示される化合物を得る。

工程(iii)は式(IV)で示される化合物のシアノ基を還元する工程である。式(IV)で示される化合物を適当な溶媒（例えばテトラヒドロフラン、ジオキサン等のエーテル類）中で適当な還元剤、好ましくは水素化リチウムアルミニウム、水素化ジイソブチルアルミニウムなどと、-20℃～100℃、好ましくは-10℃～10℃で、5分間～12時間、好ましくは10分間～15分間、反応させることにより式(V)で示される化合物を得る。

工程(iv)は式(V)で示される化合物の水酸基を保護する工程である。例えばXが*t*-ブチルジメチルシリル基の場合、式(V)で示される化合物を適当な不活性溶媒（例えば、ジクロロメタン、クロロホルム、四塩化炭素等のハロゲン化炭化水素類）中で、トリフルオロメタンスルホン酸*t*-ブチルジメチルシリル塩基（例えば、ピリジン、ジメチルアミノピリジン、ルチジン等、好ましくは、ルチジン）とともに、-10℃～50℃、好ましくは0℃～5℃で、10分から12時間、好ましくは0.5時間～1.5時間、反応させることにより式(VI)

で示される化合物を得る。

工程 (v) は、式 (VI) で示される化合物のアミノ基を保護する工程である。例えば、Y が、アセチル基、トリフルオロアセチル基、ベンゾイル基のようなアシル基の場合、式 (VI) で示される化合物を適当な不活性溶媒中、または無溶媒で、塩基、好ましくはピリジンの存在下、カルボン酸及び適当な結合剤（例えば、DDC）、カルボン酸塩化物、カルボン酸無水物等とともに、 -10°C ～ 60°C 、好ましくは 0°C ～ 5°C で、5分間から12時間、好ましくは10分間～30分間、反応させることにより式 (VII) で示される化合物を得る。

工程 (vi) は、式 (VII) で示される化合物に R^{1a} （前記と同一内容の基を表す）を導入する工程である。 R^{1a} がアルキル基の場合には、式 (VII) で示される化合物を適当な溶媒（例えば、N, N-ジメチルホルムアミド）中で、塩基（例えば水素化ナトリウム、水素化カリウム、炭酸カリウム、炭酸ナトリウム等、好ましくは水素化ナトリウム）の存在下、ハロゲン化アルキルとともに、 -20°C ～ 100°C 、好ましくは -10°C ～ 10°C で、5分間～12時間、好ましくは10分間～20分間反応させることにより、式 (VIII) で示される化合物を得る。 R^{1a} が、アルキル基以外の基である式 (VIII) の化合物は、上記方法に準じて合成できることは当業者に明らかであろう。

工程 (vii) は、式 (VIII) で示される化合物の脱保護を行う工程である。例えばXが t -ブチルジメチルシリル基、Yがトリフルオロアセチル基の場合、式 (VIII) で示される化合物を適当な溶媒（テトラヒドロフラン、ジオキサン等のエーテル類）中で、適当な酸、もしくはフッ化テトラブチルアンモニウム、好ましくはフッ化テトラブチルアンモニウムとともに、 -10°C ～ 60°C 、好ましくは -10°C ～ 10°C で、10分間～12時間、好ましくは10分間～1時間反応させることにより、 t -ブチルジメチルシリル基を除く。続いてメタノール、エタノール等のアルコール類、好ましくはメタノール中で、ナトリウムアルコキシ

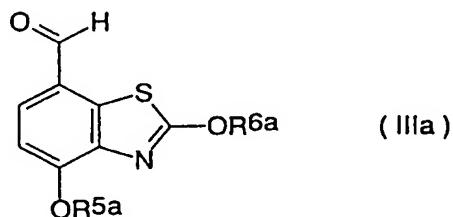
ド、カリウムアルコキシド、好ましくはナトリウムメトキシドとともに、0℃～100℃、好ましくは5℃～40℃で、10分間～12時間、好ましくは10分間～30分間反応させることにより、式(IX)で示される化合物を得る。

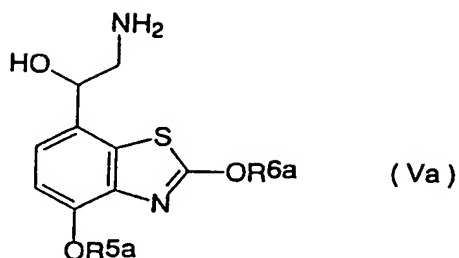
工程(viii)は、式(IX)で示される化合物の脱保護を行う工程である。式(IX)で示される化合物を、反応を阻害しない適当な溶媒(例えば、ジクロロメタン、クロロホルム、四塩化炭素、クロロベンゼン等のハロゲン化炭化水素、アセトニトリル、好ましくはアセトニトリル)中で、適当な酸、ルイス酸、ナトリウムチオメトキシド、好ましくは三臭化ホウ素とともに、-20℃～100℃、好ましくは5℃～40℃で、1時間～72時間、好ましくは12時間～40時間、反応させることにより式(I)で示される化合物を得る。

なお、上記合成法において、反応に関与しない官能基において副反応が生じないように合成順序が決定され、また好ましくない反応が進行しないよう官能基が適当な保護基で保護されてもよいことは、当業者に明らかであろう。また、式(Ia)に含まれない式(I)の化合物は、出発物質等に改変を加えることによって得ることができることは、当業者に明らかであろう。

式(I)の化合物の酸付加塩は、周知の方法、例えばメタノール、エタノール、2-プロパノール等のような適当な有機溶剤中に溶解した当該化合物の溶液中に当量あるいは過剰量の酸を添加することによって製造することができる。

図8のスキーム中、式(III)および式(V)の中間体は新規な化合物である。従って、本発明によれば、下記式(IIIa)および式(Va)の化合物が提供される：





(上記式中、 R^{5a} および R^{6a} は、同一または異なっていてもよく、水素原子、1以上のハロゲン原子により置換されていてもよい炭素数1～4のアルキル基、アセチル基、トリフルオロアセチル基、ベンゾイル基、ピバロイル基、メトキシカルボニル基、ベンジル基、パラメトキシベンジル基、メトキシメチル基、*t*-ブチルジメチルシリル基、またはトリイソプロピルシリル基を表す)。

上記式 (III a) および式 (V a) の化合物は、式 (I a) の化合物を製造する際の間体として有用である。

化合物の用途／医薬組成物

本発明による化合物は、 $\beta 1$ 受容体に対してよりも $\beta 2$ 受容体に対して相対的に非常に大きな活性を有する。即ち、本発明による化合物は、選択的 $\beta 2$ 受容体刺激活性を有する。また、本発明による化合物は、モルモットの摘出気管支組織を非常に低濃度で弛緩させる。更に、マウスに本発明による化合物を実際に投与すると、非常に強い気管支拡張作用が認められる。

従って、本発明による化合物は、気管支喘息（例えば、急性気管支喘息、慢性気管支喘息）、喘息性気管支炎、肺気腫、気管支炎、急性気管支炎のような呼吸器疾患の治療に有用である。本発明による化合物は、非常に強い選択的 $\beta 2$ 受容体刺激活性を有することから、心拍数増強作用等の副作用のない呼吸器疾患治療剤であることが期待される。本明細書において、呼吸器疾患には、可逆性

気道閉塞症が含まれるものとし、呼吸器系疾患治療用医薬には気道拡張剤および気管支拡張剤が含まれるものとする。

本発明による化合物は、また、きわめて作用時間の短い $\beta 2$ 受容体刺激活性を有する。従って、本発明による化合物は、呼吸器系疾患のうち特に救急性を要する疾患（例えば、急性気管支喘息）の治療に有用である。

また、本発明による化合物は、ヒト肥満細胞からの脱顆粒反応、即ち、肥満細胞からの化学伝達物質（ケミカルメディエーター）の放出、を抑制する。化学伝達物質の放出は、アレルギー性喘息（気管支喘息を含む）、アレルギー性鼻炎、アレルギー性皮膚炎（例えば、アトピー性皮膚炎およびアレルギー性接触皮膚炎）、蕁麻疹、掻痒、アレルギー性結膜炎、アナフィラキシーのようなアレルギー性疾患や、気管支炎、急性気管支炎のような炎症性疾患を引き起こすことが知られている（呼と循、44巻12号、1240-1247 頁および1255-1260 頁(1996 年)；最新医学、49巻（臨時増刊号）、102-122 頁（1994年））。本発明による化合物は、また、ヒト肥満細胞からの $\text{TNF}-\alpha$ 産生を抑制する。 $\text{TNF}-\alpha$ は、アレルギー性喘息（気管支喘息を含む）、アレルギー性鼻炎、アレルギー性皮膚炎（例えば、アトピー性皮膚炎およびアレルギー性接触皮膚炎）、蕁麻疹、掻痒、アレルギー性結膜炎のようなアレルギー疾患や、気管支炎、急性気管支炎のような炎症性疾患を引き起こすことが知られている（前掲文献）。更に、本発明による化合物は、マウスおよびラットにおいて受動皮膚アナフィラキシーおよびヒスタミンによるアレルギー反応を抑制した。

従って、本発明による化合物は、アレルギー性疾患や炎症性疾患の治療に有用である。なお、アレルギー性疾患が炎症性疾患の一部を意味することがあり、炎症性疾患がアレルギー疾患の一部を意味することがある。

本発明によれば、上記疾患の治療に用いられる医薬組成物が提供される。

本発明による化合物は、合目的的な任意の投与経路、具体的には、ヒト以外の

動物の場合には腹腔内投与、皮下投与、静脈または動脈への血管内投与及び注射による局所投与などの方法が、またヒトの場合は静脈内投与、動脈内投与、注射による局所投与、腹腔、胸腔への投与、経口投与、吸入投与、皮下投与、筋肉内投与、舌下投与、経皮吸収、または直腸投与により投与することが可能である。

静脈内投与、または吸入投与が好ましい。

吸入法に用いられる吸入機器としては、例えばジェット式ネブライザー、超音波ネブライザー、H F V (high frequency vibration)、I P P B (intermittent positive pressure breathing)、定量噴霧式吸入剤、スピンヘラーがある。その即効性、携帯性ならびに簡便性の観点からは、定量噴霧式吸入剤が好ましくは用いられる（参照：千葉県小児気管支喘息吸入療法研究会編、吸入療法マニュアル、18-23頁、1992年）。

本発明による化合物は、そのまま投与されてもよいが、薬理学上許容される担体とともに医薬組成物として処方されて投与されることが好ましい。医薬組成物の処方、投与方法、投与目的を考慮して適宜決定されてよいが、例えば、粉末剤（吸入用粉末剤）、注射剤、懸濁剤、錠剤、顆粒剤、散剤、カプセル剤、軟膏剤、クリーム剤等の形態で投与することができる。注射剤、または吸入剤が好ましい。

溶剤として、例えば水、生理食塩水等を、可溶化剤として、例えばエタノール、ポリソルベート剤を、賦形剤として、例えば乳糖、デンプン、結晶セルロース、マンニトール、マルトース、リン酸水素カルシウム、軽質無水ケイ酸、炭酸カルシウム等を、結合剤として、例えばデンプン、ポリビニルピロリドン、ヒドロキシプロピルセルロース、エチルセルロース、カルボキシメチルセルロース、アラビアゴム等を、崩壊剤として、例えばステアリン酸マグネシウム、タルク、硬化油等を、安定剤として、例えば乳糖、マンニトール、マルトース、ポリソルベート類、マクロゴール類、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油等を用いることができ

る。また、必要に応じて、グリセリン、ジメチルアセトアミド、70%乳酸ナトリウム、界面活性剤、塩基性物質（例えば、エチレンジアミン、エタノールアミン、炭酸ナトリウム、アルギニン、メグルミン、トリスアミノメタン）を添加することもできる。これらの成分を用いて、注射剤、錠剤、顆粒剤、吸入剤またはエアゾール剤、カプセル剤等の剤型に製造することができる。

定量噴霧式吸入剤においては、本発明の薬剤は、水溶液または水溶性懸濁液として処方し投与することができる。例えば、薬剤を、場合によっては1種または2種以上の安定剤と一緒に、発射剤、例えば、圧縮空気、圧縮二酸化炭素またはフロン系プロペラトンに懸濁したエアゾールスプレー処方も、また、使用することができる。フロン系プロペラトンの例としては、クロロフルオロカーボン（CFC-11、CFC-12及びCFC-114）、ハイドロクロロフルオロカーボン（HCFC-123、HCFC-124及びHCFC-141）、ハイドロフルオロカーボン（HCFC-125及びHFC-134a）等がある。また、吸入または注入による投与に関して、本発明の薬剤は、乾式粉末組成物、例えば活性成分及びラクトースのような適当な担体の粉末混合物の形態をとることができる。この粉末組成物は、例えばカプセル、カートリッジまたはプリスター包装中の単位投与形態で与えることができる。これらの形態から、粉末は、ロータヘイラー（Rotahaler）吸入器（Glaxo Group 商品名）のような吸入器の助けによって、または、プリスター包装の場合はデスクヘイラー（Diskhaler）吸入器（Glaxo Group 商品名）によって投与することができる。また、噴霧器、及び吸入機器を用いた投与法では、薬剤または粉末組成物の粒子径は $100\mu\text{m}$ 以下であるべきであり、 $0.5\mu\text{m}$ から $25\mu\text{m}$ になるように噴霧されることが望ましい。

化合物の投与量は、種々の状況を勘案して、連続的または間欠的に投与したときに総投与量が一定量を越えないように定められる。具体的には、成人1日あた

り0.01～500mg程度である。定量噴霧式吸入剤では、1噴霧0.01～0.5mlになるように調節され、1噴霧あたり0.001～10mg程度である。使用される正確な投与量は、投与経路、投与方法、並びに患者の年齢、体重及び症状に依存し、臨床医師または獣医師により決定される。

本明細書において、「治療」とは、予防を含む意味で用いられるものとする。

本発明によれば、有効量の式(I)の化合物またはその薬理学上許容しうる塩もしくは溶媒和物を、呼吸器系疾患、炎症性疾患、および／またはアレルギー性疾患に罹ったヒトまたはヒト以外の動物に投与することを含む、これらの疾患の治療法が提供される。式(I)の化合物の投与方法は上記記載に準じて行うことができる。

実 施 例

本発明を下記例により更に詳細に説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。

実施例1 4-ヒドロキシ-7-[1-(1-ヒドロキシ-2-置換アミノ)エチル]-1,3-ベンゾチアゾール-2(3H)-オンの単離・精製

沖縄県近海で4～6月頃採取した海綿(Dysidea sp.)8kgをブレンダーを用いて粉碎後、凍結乾燥した。凍結乾燥された海綿を更にブレンダーを用いて935gの粉体を得た。粉体化した海綿をジクロロメタン-メタノール(1:1)の混合溶媒を用いて3回抽出した。抽出物を濃縮してから酢酸エチル3リットルに溶解させ、1.5倍容量の蒸留水を用いて分配クロマトを2回実施した。得られた計8リットルの水画分を濃縮し、約200gの濃縮物を得た。ジクロロメタン-メタノール(15:1)で予め平衡化したシリカゲルカラム(メルク社製、シリカゲル60)のカラム(7cmφ×50cm)にこの濃縮物を吸着させ、ジクロロメタン-メタノール(15:1)を2リットル、次にジクロロメタン-メタノール-水(3:1:0.1)を4リットル、更にジクロロメタン-メタノール

ルー水（1 : 1 : 0.1）を3リットルで溶出した。活性画分を濃縮し、80gの濃縮物を得た。

得られた濃縮物40gを20%メタノールで溶解し、活性炭のカラム（100ml）にこの濃縮物を吸着させた。300mlの20%メタノールで洗浄後、70%アセトンを300ml、次に70%アセトン（0.4%トリフルオロ酢酸）600mlで溶出した。活性画分を濃縮乾固した後、得られた濃縮物を溶離剤として20%メタノール-80%20mMリン酸カリウム緩衝液（pH7.0）、カラムとしてODSカラム（ワイエムシー社、SH-343-7）を用いた液体高速クロマトグラフィーにより分画した。

活性画分を濃縮乾固した後、更に溶離剤として10%メタノール-90%20mMリン酸カリウム緩衝液（pH7.0）を用いて、同様の液体高速クロマトグラフィーにより分画した。活性画分を濃縮乾固した後、ジクロロメタン-メタノール-水（3 : 1 : 0.1）で予め平衡化したシリカゲルカラム（メルク社製、シリカゲル60）のカラム（1.2cmφ×20cm）にこの濃縮物を吸着させ、平衡化に用いたのと同じ溶媒で溶出した。

活性画分を濃縮乾固した後、得られた粗精製物をジクロロメタン-メタノール-水（6 : 1 : 0.1、2%酢酸）で予め平衡化したアルミナカラム（メルク社製、アルミニウムオキシド60）のカラム（1.0cmφ×20cm）に吸着させた後、平衡化に用いたのと同じ溶媒で溶出し、4-ヒドロキシ-7-[1-(1-ヒドロキシ-2-メチルアミノ)エチル]-1,3-ベンゾチアゾール-2(3H)-オン酢酸塩（4.8mg）を得た。プロトン（図1）及び¹³C（図2）の核磁気共鳴スペクトルの結果、及び、高分解能マススペクトルの結果から、この化合物が4-ヒドロキシ-7-[1-(1-ヒドロキシ-2-メチルアミノ)エチル]-1,3-ベンゾチアゾール-2(3H)-オンであることを確認した。

$^1\text{H-NMR}(\text{D}_2\text{O})$

2.71(s, 3H, NHCH_3), 3.26(m, 2H, CH_2NHCH_3), 5.03 (dd, $J=4.3\text{Hz}, 8.5\text{Hz}$, 1H, CHOHNHCH_3), 6.8(d, $J=8.5\text{Hz}$, 1H, ArH-5), 7.0(d, $J=8.5\text{Hz}$, 1H, ArH-6)

MS ; $[\text{M}+\text{H}]^+=241$, $[\alpha]_{\text{D}}^{26}=-10.0^\circ$

実施例2 4-ヒドロキシ-7-[1-(1-ヒドロキシ-2-メチルアミノ)エチル]-1,3-ベンゾチアゾール-2(3H)-オンの合成

表題化合物の合成の概略は図8に示される通りである。

(1) 2,4-ジメトキシ-7-メチル-1,3-ベンゾチアゾール (II) の合成

2-メトキシ-5-メチルフェニルチオウレア (Lancaster 社 ; #12101) (3.0 g) をクロロホルム (70 ml) に溶解し、氷冷下で臭素 (4.9 g) のクロロホルム溶液 (10 ml) を滴下した。滴下終了後、室温で30分間攪拌、その後更に40分間加熱還流した。室温に冷却した後、析出した結晶を濾集し、アセトンで洗浄した。得られた白色結晶を熱水に溶解し (180 ml)、冷却した後アンモニア水を用いて、pH 10に調整し白色結晶を析出させた。この結晶を濾集し、減圧乾燥した。

得られた結晶をリン酸 (80 ml) に溶解し、 -15°C に冷却下、亜硝酸ナトリウム (2.22 g) 水溶液 (8 ml) を滴下した。滴下終了後 -15°C で更に90分間攪拌し、紫色懸濁液を得た。硫酸銅五水和物 (11.6 g)、塩化ナトリウム (14.3 g) の水溶液 (60 ml) に氷冷し、上記紫色懸濁液を滴下した。滴下終了後室温で更に3時間攪拌した。反応溶液をジエチルエーテルで抽出し、ジエチルエーテル層を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液で中和し、飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄し、無水硫酸ナトリウムを用いて乾燥した後、溶媒を減圧留去し、2-クロロ-4-メトキシ-7-メチル-1,3-ベンゾチアゾール (2.16 g) を得た。

次いで、2-クロロ-4-メトキシ-7-メチル-1, 3-ベンゾチアゾール (2.16 g) をメタノール (50 ml) に溶解し、ナトリウムメトキシド (5.48 g) を加えて、2時間加熱還流した。溶媒を減圧留去し、得られた油状物を水に懸濁し、酢酸を用いて pH 4 に調整した。この懸濁液をジエチルエーテルで抽出し、ジエチルエーテル層を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液で中和し、飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した。溶媒を減圧留去し、シリカゲルカラムクロマトグラフィーにて精製し、2, 4-ジメトキシ-7-メチル-1, 3-ベンゾチアゾール (1.72 g) を得た。

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$

2.37(s, 3H, ArCH₃-7), 3.98(s, 3H, OCH₃), 4.24(s, 3H, ArOCH₃), 6.78(d, J=7.9 Hz, 1H, ArH-5), 6.96(d, J=7.9 Hz, 1H, ArH-6)

MS ; $[\text{M}^+]$ = 209

(2) 2, 4-ジメトキシ-1, 3-ベンゾチアゾール-7-カルボアルデヒド(III) の合成

上記(1)で合成した2, 4-ジメトキシ-7-メチル-1, 3-ベンゾチアゾール (1.72 g) 及びセリウムアンモニウムナイトレイト (20.8 g) をメタノール (80 ml) に加え、60℃で5分間攪拌した。溶媒を留去し得られた油状物質に水を加え、ジクロロメタンで抽出した。ジクロロメタン層を飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した後、溶媒を留去し、シリカゲルカラムクロマトグラフィーにて精製し、2, 4-ジメトキシ-1, 3-ベンゾチアゾール-7-カルボアルデヒド (1.0 g) を得た。

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$

4.11(s, 3H, OCH₃), 4.27(s, 3H, ArOCH₃), 7.02(d, J=9 Hz, 1H, ArH-5), 7.74(d, J=9 Hz, 1H, ArH-6), 9.98(s, 1H, CHO)

MS ; $[\text{M}^+]$ = 223

(3) 2-アミノ-1-(2, 4-ジメトキシ-1, 3-ベンゾチアゾール-7-イル)-1-エタノール(V)の合成

上記(2)で合成した2, 4-ジメトキシ-1, 3-ベンゾチアゾール-7-カルボアルデヒド(1.0g)をジクロロメタン(30ml)に溶解し、トリメチルシリルシアニド(2.4ml)、ヨウ化亜鉛(290mg)を加え室温で10分間攪拌した。反応液を飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した後、溶媒を留去した。得られた油状物質をテトラヒドロフラン(30ml)に溶解し0℃に冷却した。これを水素化リチウムアルミニウム(510mg)のテトラヒドロフラン懸濁液(30ml)に滴下した。0℃で10分間攪拌の後、硫酸ナトリウム10水和物を加えた。反応液をセライトでろ過した後、溶媒を留去しシリカゲルカラムクロマトグラフィーにて精製し、2-アミノ-1-(2, 4-ジメトキシ-1, 3-ベンゾチアゾール-7-イル)-1-エタノール(950mg)を得た。

$^1\text{H-NMR}(\text{CD}_3\text{OD})$

3.07(dd, J=9.7Hz, 12Hz, 1H, CH_2NH_2), 3.14(dd, J=3.9Hz, 12Hz, 1H, CH_2NH_2),
3.98(s, 3H, OCH_3), 4.19(s, 3H, ArOCH_3), 5.07(dd, J=9.7Hz, 3.9Hz, 1H, ArCHOH),
7.06(d, J=8.5Hz, 1H, ArH-5), 7.22(d, J=8.5Hz, 1H, ArH-6)

MS; $[\text{M}^+]=254$

(4) 2-{[1-(t-ブチル)-1, 1-ジメチルシリル]オキシ}-2-(2, 4-ジメトキシ-1, 3-ベンゾチアゾール-7-イル)-1-エチルアミン(VI)の合成

上記(3)で合成した2-アミノ-1-(2, 4-ジメトキシ-1, 3-ベンゾチアゾール-7-イル)-1-エタノール(85mg)をジクロロメタン(3ml)に懸濁し、ルチジン(0.12ml)、トリフルオロメタンスルホン酸t-ブチルジメチルシリル(0.23ml)を加え、室温で1時間攪拌した。0℃

に冷却下1% 塩酸を加え、酢酸エチルで抽出した。酢酸エチル層を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液で洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥した後、溶媒を減圧留去し、シリカゲルカラムクロマトグラフィーにて精製し、2- { [1- (t-ブチル) -1, 1-ジメチルシリル] オキシ} -2- (2, 4-ジメトキシ-1, 3-ベンゾチアゾール-7-イル) -1-エチルアミン (62 mg) を得た。

¹H-NMR(CDCl₃)

-0.11(s, 3H, Si CH₃), 0.07(s, 3H, Si CH₃), 0.90(s, 9H, SiC(CH₃)₃), 2.85(dd, J=4.9Hz, 13Hz, 1H, CH₂ NH₂), 2.93(dd, J=6.7Hz, 13Hz, 1H, CH₂ NH₂), 3.99(s, 3H, OCH₃), 4.23(s, 3H, ArOCH₃), 4.69(dd, J=4.9Hz, 6.7Hz, 1H, ArCHOTBS), 6.81(d, J=7.9Hz, 1H, ArH-5), 7.04(d, J=7.9Hz, 1H, ArH-6)

(5) N1- [2- { [1- t-ブチル) -1, 1-ジメチルシリル] オキシ} -2- (2, 4-ジメトキシ-1, 3-ベンゾチアゾール-7-イル) エチル] -2, 2, 2-トリフルオロアセトアミド(VII) の合成

上記(4)で合成した2- { [1- (t-ブチル) -1, 1-ジメチルシリル] オキシ} -2- (2, 4-ジメトキシ-1, 3-ベンゾチアゾール-7-イル) -1-エチルアミン (62 mg) をピリジン (3 ml) に溶解し、無水トリフルオロ酢酸 (72 μl) を加え、0℃で10分間攪拌した。1% 塩酸を加え、酢酸エチルで抽出した。酢酸エチル層を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液で洗浄、無水硫酸ナトリウムで乾燥した後、溶媒を減圧留去し、シリカゲルカラムクロマトグラフィーにて精製し、N1- [2- { [1- (t-ブチル) -1, 1-ジメチルシリル] オキシ} -2- (2, 4-ジメトキシ-1, 3-ベンゾチアゾール-7-イル) エチル] -2, 2, 2-トリフルオロアセトアミド (81 mg) を得た。

¹H-NMR(CDCl₃)

-0.12(s, 3H, Si CH₃), 0.06(s, 3H, Si CH₃), 0.91(s, 9H, SiC(CH₃)₃), 3.46(m, 1H, CH₂ NHTFA), 3.69(m, 1H, CH₂ NHTFA), 4.00(s, 3H, OCH₃), 4.24(s, 3H,

ArOCH₃), 4.90(dd, J=4.3Hz, 8.6Hz, 1H, ArCHOTBS), 6.83(d, J=7.9Hz, 1H, ArH-5),
7.06(d, J=7.9Hz, 1H, ArH-6)

MS ; [M⁺] = 464

(6) N1-[2-{[1-(t-ブチル)-1, 1-ジメチルシリル]オキシ}-2-(2, 4-ジメトキシ-1, 3-ベンゾチアゾール-7-イル)エチル]-N1-メチル-2, 2, 2-トリフルオロアセトアミド(VIII)の合成

上記(5)で合成したN1-[2-{[1-(t-ブチル)-1, 1-ジメチルシリル]オキシ}-2-(2, 4-ジメトキシ-1, 3-ベンゾチアゾール-7-イル)エチル]-2, 2, 2-トリフルオロアセトアミド(81mg)をN, N-ジメチルホルムアミド(3ml)に溶解し、水素化ナトリウム(15mg)、ヨウ化メチル(25μl)を加え、0℃で1時間攪拌した。水を加え酢酸エチルで抽出した。酢酸エチル層を飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した後、溶媒を減圧留去し、シリカゲルカラムクロマトグラフィーにて精製し、N1-[2-{[1-(t-ブチル)-1, 1-ジメチルシリル]オキシ}-2-(2, 4-ジメトキシ-1, 3-ベンゾチアゾール-7-イル)エチル]-N1-メチル-2, 2, 2-トリフルオロアセトアミド(71mg)を得た。

¹H-NMR(CDCl₃)

-0.13(s, 3H, Si CH₃), 0.05(s, 3H, Si CH₃), 0.88(s, 9H, SiC(CH₃)₃), 2.99(s, 3H, N(CH₃)TFA), 3.51(dd, J=7.9Hz, 13Hz, 1H, CH₂N(CH₃)TFA), 3.58(dd, J=5.5, 13Hz, 1H, CH₂N(CH₃)TFA), 4.01(s, 3H, OCH₃), 4.25(s, 3H, ArOCH₃), 5.15(dd, J=5.5Hz, 7.9Hz, 1H, ArCHOTBS), 6.82(d, J=8.6Hz, 1H, ArH-5), 7.05(d, J=8.6Hz, 1H, ArH-6)

MS ; [M⁺] = 478

(7) 1-(2, 4-ジメトキシ-1, 3-ベンゾチアゾール-7-イル)-2-(メチルアミノ)-1-エタノール(IX)の合成

上記(6)で合成したN1-[2-{[1-(*t*-ブチル)-1, 1-ジメチルシリル]オキシ}-2-(2, 4-ジメトキシ-1, 3-ベンゾチアゾール-7-イル)エチル]-N1-メチル-2, 2, 2-トリフルオロアセトアミド(337mg)をテトラヒドロフラン(10ml)に溶解し、フッ化テトラブチルアンモニウムのテトラヒドロフラン1.0モル溶液(1.1ml)を加え、0℃で20分間攪拌した。水を加え酢酸エチルで抽出した。酢酸エチル層を飽和塩化ナトリウム水溶液で洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥した後、溶媒を減圧留去し、シリカゲルカラムクロマトグラフィーにて精製し、N1-[2-(2, 4-ジメトキシ-1, 3-ベンゾチアゾール-7-イル)-2-ヒドロキシエチル]-N1-メチル-2, 2, 2-トリフルオロアセトアミド(238mg)を得た。

上記で合成したN1-[2-(2, 4-ジメトキシ-1, 3-ベンゾチアゾール-7-イル)-2-ヒドロキシエチル]-N1-メチル-2, 2, 2-トリフルオロアセトアミド(45mg)をメタノール(5ml)に溶解し、ナトリウムメトキシド(70mg)を加え、室温で40分間攪拌した。溶媒を減圧留去した後、アルミナカラムクロマトグラフィーにて精製し、1-(2, 4-ジメトキシ-1, 3-ベンゾチアゾール-7-イル)-2-(メチルアミノ)-1-エタノール(23mg)を得た。

$^1\text{H-NMR}(\text{CD}_3\text{OD})$

2.41(s, 3H, NHCH_3), 2.72(dd, $J=4.3\text{Hz}, 12\text{Hz}$, 1H, CH_2NHCH_3), 2.83(dd, $J=9.2\text{Hz}, 12\text{Hz}$, 1H, CH_2NHCH_3), 3.96(s, 3H, OCH_3), 4.18(s, 3H, ArOCH_3), 4.90(dd, $J=4.3\text{Hz}, 9.2\text{Hz}$, 1H, Ar CHOHCH_2), 6.93(d, $J=7.9\text{Hz}$, 1H, ArH-5), 7.12(d, $J=7.9\text{Hz}$, 1H, ArH-6)

(8) 4-ヒドロキシ-7-[1-ヒドロキシ-2-メチルアミノ)エチル]-1,3-ベンゾチアゾール-2(3H)-オン(I)の合成

上記(7)で合成した1-(2,4-ジメトキシ-1,3-ベンゾチアゾール-7-イル)-2-(メチルアミノ)-1-エタノール(23mg)をジクロロメタンに懸濁し、三臭化ホウ素のジクロロメタン溶液(1.2ml)を加え、室温で36時間攪拌した。重曹を添加して中和して濃縮した後、得られた濃縮物を溶離剤として10%メタノール-90%20mMリン酸カリウム緩衝液(pH 7.0)、カラムとしてODSカラム(ワイエムシー社、SH-343-7)を用いた液体高速クロマトグラフィーにより分画した。活性画分を凍結乾燥した後、ジクロロメタン-メタノール(1:1)で抽出し、4-ヒドロキシ-7-[1-ヒドロキシ-2-メチルアミノ)エチル]-1,3-ベンゾチアゾール-2(3H)-オンリン酸塩1.66mgを得た。

$^1\text{H-NMR}(\text{D}_2\text{O})$

2.57(s, 3H, NHCH_3), 3.09(dd, $J=4.3\text{Hz}, 13\text{Hz}$, 1H, CH_2NHCH_3), 3.15(dd, $J=9.2\text{Hz}, 13\text{Hz}$, 1H, CH_2NHCH_3), 4.8(dd, $J=4.3\text{Hz}, 9.2\text{Hz}$, 1H, CHOHNHCH_3), 6.5(d, $J=8.6\text{Hz}$, 1H, ArH-5), 6.8(d, $J=8.6\text{Hz}$, 1H, ArH-6)

融点: 約180°C (分解)

薬理試験例1 摘出モルモット気管支弛緩作用試験

モルモット気管支標本の作製はAkεasuの方法に準じて行った(Akεasu, J. Pharma. Pharmacol. vol. 4, pp671(1962))。モルモットの頸部及び筋肉を正中線に沿って切開し、口喉頭蓋軟骨下端より胸部に至るまでの頸部気管を取り出して、タイロード-HEPES緩衝液(栄養液)中に浸した。十分に栄養液で濡らしたろ紙をシャーレ内に敷き、その上で外膜の疎性結合組織を取り除いた後、軟骨をつけたまま幅2-3mmのリングにした。筋の対側の軟骨をハサミで開き、それぞれ3個を接着剤を用いて、互いに連結し標本とし、37°C、CO₂5%、O₂

95%の条件下のマグヌス装置内に吊るした。標本の下端は固定し、上端は張力測定用トランスデューサー（日本光電工業、TB-611T）に連結して、その張力（弛緩）をひずみ圧力用アンプ（日本光電工業、AP-621G）を用いて等尺性に記録した。

実施例2の化合物および対照化合物を図3に示される濃度で低濃度より累積的に投与し、薬物に対する標本の張力（弛緩）の濃度依存曲線を描いた。また、その濃度依存曲線より50%張力（弛緩）に対応する供試化合物の濃度（モル濃度）を求め、この数値の負の対数値を pD_2 値とした。

結果は図3に示される通りであった。モルモット気管支において、4-ヒドロキシ-7-[1-(1-ヒドロキシ-2-メチルアミノ)エチル]-1,3-ベンゾチアゾール-2(3H)-オンは、公知化合物であるサルブタモールの約1800倍、イソプロテレノールの約4000倍の極めて強い気管支拡張作用を有していた。

薬理試験例2 β_2 受容体選択性試験

モルモットの頸部及び筋肉を正中線に沿って切開し、心臓を摘出し、左心房を切り出した。薬理試験例1と同様に標本の下端は固定し、上端は張力測定用トランスデューサー（日本光電工業、TB-611T）に連結して、その心拍数の変化を心拍数測定用アンプ（日本光電工業、AT-601G）を用いて測定した。まずイソプロテレノールの最大心拍数を求め、それを100%とした。実施例2の化合物および対照化合物を低濃度より累積的に投与し、薬物に対する標本の心拍数の濃度依存曲線を描いた。その濃度依存曲線より50%増強に対応する供試化合物の濃度（モル濃度）を求め、この数値の負の対数値を pD_2 値とした。

また、薬理試験例1の結果と合わせて、試験薬物の β_2 受容体に対する選択性を以下の式で求めた。

$$\text{選択性} = 10^{(pD_2(\text{気管支弛緩作用}) - pD_2(\text{左心房心拍数増強作用}))}$$

結果は表1に示される通りであった。

表 1

試験化合物	p D 2 値		選 択 性 気管／左心房(倍)
	気 管 (β 2 受容体)	左心房 (β 1 受容体)	
実施例2の化合物	10.77	6.75	10471
フォルモテロール	10.60	8.02	380
サルブタモール	7.50	6.78	5.25
イソプロテレノール	7.17	7.97	0.16

4-ヒドロキシ-7-[1-(1-ヒドロキシ-2-メチルアミノ)エチル]-1,3-ベンゾチアゾール-2(3H)-オンは、極めて弱い心拍数増強作用を有していた。

また、4-ヒドロキシ-7-[1-(1-ヒドロキシ-2-メチルアミノ)エチル]-1,3-ベンゾチアゾール-2(3H)-オンは、公知化合物のサルブタモールの約2000倍、フォルモテロールの約30倍の極めて優れた選択的 β 2受容体刺激作用を有していた。

薬理試験例3 摘出モルモット気管支弛緩作用の持続時間試験

モルモット気管支を用いた気管支弛緩作用の持続時間試験は、Vossらの方法に準じて行った(Voss et al., Euro. J. Pharmacol. Vol. 227, pp403-409(1992))。薬理試験例1の方法に従って、モルモット気管支を装置につるした。 3×10^{-5} Mメサコリンを用いて最大収縮を誘導し、これを弛緩率0%とした。実施例2の化合物およびフォルモテロールを 1×10^{-8} Mとなるように、サルブタモールおよびイソプロテレノールを 3×10^{-7} Mとなるように、投与し、最大弛緩を誘導し、これを弛緩率100%とした。最大弛緩が誘導された直後にモルモット気管

支をタイロード-HEPES緩衝液で洗浄し、この時間を反応開始時間として経時的に収縮を測定した。

結果は図4に示される通りであった。本発明の4-ヒドロキシ-7-[1-(1-ヒドロキシ-2-メチルアミノ)エチル]-2,3-ジヒドロ-1,3-ベンゾチアゾール-2-オンは、活性の半減期で比較した場合、公知化合物のイソプロテレノールの約0.58倍、サルブタモールの約0.12倍、フォルモテロールの約0.09倍であり、極めて作用時間の短い β 2受容体刺激作用を有していた。

薬理試験例4 麻酔下マウスのアセチルコリンによる気管支収縮反応に対する抑制作用(1)

気道収縮の測定は、Konzett-Rossler法に準じて気道抵抗測定装置を用いて気道抵抗の変化を測定した。マウスの腹腔内にペントバルビトン・ナトリウム 100mg/kgを注射して麻酔した後、気管切開してガラス製気管カニューレを挿管し、閉鎖性動物人工呼吸器(ハーバード・アパラタス、683型)を用い1回送気量0.6ml、1分間に60回の人工換気を行った。手術完了後にパンクロニウム・ブロマイド 0.1mg/kgを静脈内に注射し、自発呼吸を停止させた。気管カニューレの側枝からオーバーフローする空気の圧を圧トランスデューサー(ウゴ・バジル、7020型)により測定し、これを気道収縮反応の指標とした。実施例2の化合物、フォルモテロールおよびサルブタモールは、アセチルコリンを静脈内投与する直前に静脈内投与した。

結果は図5に示される通りであった。4-ヒドロキシ-7-[1-(1-ヒドロキシ-2-メチルアミノ)エチル]-1,3-ベンゾチアゾール-2(3H)-オンは極めて強い気管支拡張作用を有していた。

薬理試験例5 ヒト肥満細胞からの脱顆粒抑制試験

ヒト肥満細胞からの脱顆粒反応に対する抑制作用を測定した。ヒト肥満細胞は、柳田らの方法（柳田ら、Blood, 86巻、3705頁、1995年）に準じてヒト臍帯血から培養法により得た。細胞培養液中に最終濃度が $1\mu\text{g}/\text{ml}$ となるようにヒトIgEを添加し、1時間以上培養し感作した。細胞を洗浄後、タイロード-HEPES緩衝液中に懸濁し、 2×10^4 個/wellとなるようにプレートに分注した。更に実施例2の化合物を最終濃度が表示された濃度になるように添加し、30分間培養した。次に最終濃度が $3\mu\text{g}/\text{ml}$ となるように抗ヒトIgE抗体を添加し、30分間培養した後、培養上清を回収した。脱顆粒率は、上清中に含まれるトリプターゼ活性を指標にして求めた。すなわち、 $50\mu\text{l}$ の上清に $100\mu\text{l}$ の基質液（0.8mM ベンゾイル-DL-アルギニン-p-ニトロアニリド）を添加し、 37°C で静置し、 405nm の吸光度を測定した。また、細胞を0.2%トライトンX-100で破碎し、その上清を段階的に希釈し、それぞれの希釈液についてトリプターゼ活性を測定し、標準曲線を作成した。試験薬を反応させた細胞から得られた上清中のトリプターゼ活性を用いて、標準曲線から脱顆粒率を算出した。

結果は図6に示される通りであった。4-ヒドロキシ-7-[1-(1-ヒドロキシ-2-メチルアミノ)エチル]-1,3-ベンゾチアゾール-2(3H)-オンは、優れたヒト肥満細胞脱顆粒抑制作用を有していた。

薬理試験例6 ヒト肥満細胞からのTNF- α 産生抑制試験

ヒト肥満細胞からのTNF- α 産生に対する抑制作用を測定した。ヒト肥満細胞は、柳田らの方法（柳田ら、Blood, 86巻、3705頁、1995年）に準じてヒト臍帯血から培養法により得た。細胞培養液中に最終濃度が $1\mu\text{g}/\text{ml}$ となるようにヒトIgEを添加し、1時間以上培養し感作した。細胞を洗浄後、培養液中に懸濁し、 4×10^5 個/wellとなるようにプレートに分注し

た。更に実施例2の化合物を最終濃度が表示された濃度になるように添加し、30分間培養した。次に最終濃度が $3\mu\text{g}/\text{ml}$ となるように抗ヒトIgE抗体を添加し、6時間培養した後、培養上清を回収した。上清中のTNF- α の量をELISA法(バイオソース社、Cytoscreen Immunoassay Kit)により測定した。

結果は図7に示される通りであった。4-ヒドロキシ-7-[1-(1-ヒドロキシ-2-メチルアミノ)エチル]-1,3-ベンゾチアゾール-2(3H)-オンは、優れたTNF- α 産生抑制作用を有していた。

薬理試験例1～6の試験結果は表2に示される通りである。

表 2

薬理試験	試験化合物			
	実施例2の化合物	フォルモテロール	サルブタモール	イソプロテレノール
(1) モルモット気管弛緩作用	pD2 = 10.77	pD2 = 10.60	pD2 = 7.50	pD2 = 7.17
(2) $\beta 2/\beta 1$ 選択性 (倍)	10471	380	5.25	0.16
(3) モルモット気管弛緩作用持続時間	4 (分)	48 (分)	37 (分)	7 (分)
(4) マウス気管弛緩作用 (<i>in vivo</i>) (ED ₅₀)	2 μ g/kg 以下	1 ~ 10 μ g/kg	10 ~ 100 μ g/kg	実施せず
(5) 肥満細胞脱顆粒抑制 (培養細胞)	IC ₅₀ = 0.52 (nM)	実施せず	実施せず	実施せず
(6) 肥満細胞 TNF- α 産生抑制	IC ₅₀ = 0.1 (nM)	実施せず	実施せず	実施せず

薬理試験例7 麻酔下マウスのアセチルコリンによる気管支収縮反応に対する抑制作用(2)

気道収縮の測定は薬理試験例4と同様に行った。実施例2と同様の方法で合成した化合物およびフォルモテロールは最初のアセチルコリンを静脈内投与する直前に静脈内投与した。倍々希釈したアセチルコリンを低濃度より投与し、アセチルコリンに対する濃度依存曲線を描き曲線下面積を求めた。

結果は表3に示される通りであった。4-ヒドロキシ-7-[1-(1-ヒドロキシ-2-メチルアミノ)エチル]-1,3-ベンゾチアゾール-2(3H)-オンは、フォルモテロールと比較して、強い気管支拡張作用を有していた。

表 3

被験化合物	n	用量 $\mu\text{g}/\text{kg}$	曲線下面積 ($\% \cdot \mu\text{g}/\text{kg}$) mean \pm S. E.	抑制率 (%)
対照群	7	—	19.0 \pm 3.2	—
実施例2の化合物	7	2	8.9 \pm 2.2 *	53
実施例2の化合物	7	5	5.1 \pm 0.7 **	73
フォルモテロール	7	2	12.0 \pm 2.0	37
フォルモテロール	7	5	9.8 \pm 2.6 *	48

* : $P < 0.05$, ** : $P < 0.01$ は対照群に対する有意差を示す。

薬理試験例8 マウスの受動皮膚アナフィラキシーおよびヒスタミンによる皮膚反応に対する抑制作用

マウスの受動皮膚アナフィラキシーおよびヒスタミンによる皮膚反応は、稲垣らの方法に準じて行った(稲垣ら、Int. Arch. Allergy Appl. Immunol. Vol. 87, p

* : $P < 0.05$, ** : $P < 0.01$ は対照群に対する有意差を示す。

表 5

被験化合物	n	用量 $\mu\text{g}/\text{kg}$	漏出色素量 (μg) mean \pm S. E.	抑制率 (%)
対照群	6	—	8.3 ± 1.5	—
実施例2の化合物	6	0.3	4.7 ± 0.3	43
実施例2の化合物	6	1	4.1 ± 1.0 *	51
実施例2の化合物	6	3	2.7 ± 0.2 *	67
サルブタモール	6	0.3	7.3 ± 1.2	12
サルブタモール	6	1	7.5 ± 0.9	10
サルブタモール	6	3	6.8 ± 0.8	18

* : $P < 0.05$ は対照群に対する有意差を示す。

薬理試験例9 ラットの受動皮膚アナフィラキシーおよび化学伝達物質による皮膚反応に対する抑制作用

ラットの受動皮膚アナフィラキシーおよび化学伝達物質による皮膚反応は、江田らの方法に準じて行った（江田ら、Int. Arch. Allergy Appl. Immunol. Vol. 92, pp209-216(1990)）。エーテル麻酔下、毛刈りしたラット背部皮膚に正中線をはさんで左右3箇所ずつ、計6箇所の反応部位を設定した。第1点には受動皮膚アナフィラキシーの対照部位として生理食塩水0.1mlを、第2点には200ng/mlのマウス抗ジニトロフェニルモノクローナルIgE抗体0.1mlをそれぞれ皮内注射した。48時間後、再びエーテル麻酔下に第3点には化学伝達物質による皮膚反応の対照部位として生理食塩水0.1mlを、第4点には 2×10^{-5} g/mlのヒスタミン0.1mlを、第5点には 5×10^{-7} g/mlの

p254-259(1988))。エーテル麻酔下、マウス右耳に $20 \mu\text{g}/\text{ml}$ のマウス抗ジニトロフェニルモノクローナル IgE 抗体 $10 \mu\text{l}$ を注射した。48 時間後、再びエーテル麻酔下にマウス左耳に $2 \times 10^{-4} \text{g}/\text{ml}$ のヒスタミン $10 \mu\text{l}$ を注射した。その直後にジニトロフェニル化牛血清アルブミン 0.25mg およびエバンスブルー色素 1.25mg を含む生理食塩水 0.25ml を静脈内注射して反応を惹起した。30 分後反応部位を分離し、 1N 水酸化カリウム 0.35ml とともに 37°C にて一晚インキュベーションした後、アセトン・リン酸混液 ($1:3:5$) 4.65ml と混和することにより色素を抽出し、波長 620nm の吸光度を測定した。実施例 2 と同様の方法で合成した化合物およびサルブタモールはヒスタミン皮内注射の直前に静脈内投与した。

受動皮膚アナフィラキシーおよびヒスタミンによる皮膚反応に対する結果はそれぞれ表 4 および表 5 に示される通りであった。4-ヒドロキシー-7-[1-(1-ヒドロキシー-2-メチルアミノ)エチル]-1,3-ベンゾチアゾール-2(3H)-オンは、公知化合物のサルブタモールと比較して、極めて強い血管透過性亢進抑制作用を有していた。

表 4

被験化合物	n	用量 $\mu\text{g}/\text{kg}$	漏出色素量 (μg) mean \pm S. E.	抑制率 (%)
対照群	6	—	10.0 ± 1.4	—
実施例 2 の化合物	6	0.3	9.1 ± 0.6	9
実施例 2 の化合物	6	1	$6.2 \pm 0.2 *$	38
実施例 2 の化合物	6	3	$4.2 \pm 0.4 **$	58
サルブタモール	6	0.3	10.0 ± 1.3	0
サルブタモール	6	1	12.4 ± 1.0	-24
サルブタモール	6	3	11.2 ± 1.4	-12

セロトニン0.1mlを、第6点には 3×10^{-7} g/mlの血小板活性化因子0.1mlをそれぞれ皮内注射した。ついで、ジニトロフェニル化牛血清アルブミン(DNP-BSA)1mgおよびエバンスブルー色素5mgを含む生理食塩水1mlを静脈内注射して反応を惹起した。30分後反応部位を分離し、1N水酸化カリウム1mlとともに37℃にて一晩インキュベーションした後、アセトン・リン酸混液(13:5)8.3mlと混和することにより色素を抽出し、波長620nmの吸光度を測定した。実施例2と同様の方法で合成した化合物およびサルブタモールは化学伝達物質皮内注射の直前に静脈内投与した。

結果は表6に示される通りであった。4-ヒドロキシ-7-[1-(1-ヒドロキシ-2-メチルアミノ)エチル]-1,3-ベンゾチアゾール-2(3H)-オンは、サルブタモールと比較して、極めて強い血管透過性亢進抑制作用を有していた。

表 6

被験化合物	n	用量 μg/kg	受動皮膚アナフィラキシー		ヒスタミン		セロトニン		血小板活性化因子	
			色素量 (μg)	抑制率 (%)	色素量 (μg)	抑制率 (%)	色素量 (μg)	抑制率 (%)	色素量 (μg)	抑制率 (%)
対照群	6	—	89.8±10.5	—	51.6±2.4	—	62.4±3.8	—	43.9±4.5	—
実施例2の化合物	6	0.1	69.0±15.7	23	58.2±4.3	-13	70.8±3.8	-13	43.3±2.0	1
実施例2の化合物	6	1	19.6±5.6**	78	40.2±3.4*	22	36.8±2.7**	41	30.9±4.9**	29
実施例2の化合物	6	10	6.8±1.4**	92	26.0±1.3**	50	12.0±1.8**	81	17.8±2.2**	59
サルブタモール	6	10	18.9±4.8**	78	41.7±3.8	19	50.0±3.0	20	24.3±3.2**	45

*: P<0.05、** : P<0.01は対照群に対する有意差を示す。

薬理試験例10 覚醒下モルモットのアスカリス抽出液吸入による気道収縮反応に対する抑制作用

アスカリス抽出液吸入による気道収縮反応は井上らの方法に準じて行った（井上ら、ASTHMA Vol 4, pp74-79(1991)）。モルモットにアスカリス抽出物20 μ gとシリカゲル20mgを2週間間隔で計2回腹腔内注射して感作した。

最終感作の1週間後より1週間間隔で計2回、0.1%アスカリス抽出液を超音波ネブライザー（オムロン、NE-U07型）を用いて1分間吸入し、気道収縮反応を惹起した。正常群はアスカリス抽出液の代わりに生理食塩水を吸入した。気道収縮の測定は小動物実験用呼吸抵抗・気道過敏性測定システム（チェスト、アニマルアスト TMC-2100）を用いて測定した。頭を出してボディチャンバー内にモルモットを入れ、口腔および鼻腔を円錐形のマスクで被い、差圧トランスデューサーを介してアンプに接続し、呼吸流量を求めた。また、スピーカーとジェネレーターを用いて体表に30Hzの正弦波を与え、ボディチャンバー内の気圧を差圧トランスデューサーを介してアンプに接続し、チャンバー内の圧変化を決定した。この圧変化と換気に重乗した30Hzの微小気流変化からHyattの計算式を用いて、コンピューター解析により呼吸抵抗を自動的に算出した。実施例2と同様の方法で合成した化合物およびサルブタモールはアスカリス抽出液吸入の2分前に10連式ネブライザー（チェスト、アニマルアスト TMC-2100）を用いて1分間吸入投与した。呼吸流量のアスカリス抽出液吸入後の減少率および呼吸抵抗のアスカリス抽出液吸入後の増加率は以下の式によって求めた。

$$\text{呼吸流量の減少率 (\%)} = [(A - B) / A] \times 100$$

A：被験化合物吸入前の呼吸流量

B：アスカリス抽出液吸入3分後の呼吸流量

$$\text{呼吸抵抗の増加率 (\%)} = [(B' - A') / A'] \times 100$$

A' : 被験化合物吸入前の呼吸抵抗

B' : アスカリス抽出液吸入3分後の呼吸抵抗

結果は表7および表8に示される通りであった。4-ヒドロキシ-7-[1-(1-ヒドロキシ-2-メチルアミノ)エチル]-1,3-ベンゾチアゾール-2(3H)-オンは、サルブタモールと比較して、強い気管支拡張作用を有していた。

表 7

被験化合物	n	用 量 $\mu\text{g}/\text{ml}$	呼 吸 流 量 (% 減少率) mean \pm S. E.	抑制率 (%)
正常群	12	—	9.1 \pm 3.8 *	—
対照群	12	—	40.9 \pm 6.1	—
実施例2の化合物	12	30	8.4 \pm 7.8 **	99
サルブタモール	12	30	17.3 \pm 6.3	72

* : $P < 0.05$ 、** : $P < 0.01$ は対照群に対する有意差を示す。

表 8

被験化合物	n	用 量 $\mu\text{g}/\text{ml}$	呼 吸 抵 抗 (% 増加率) mean \pm S. E.	抑制率 (%)
正常群	12	—	18.4 \pm 7.3 **	—
対照群	12	—	49.8 \pm 8.5	—
実施例2の化合物	12	30	15.6 \pm 4.3 **	100
サルブタモール	12	30	24.8 \pm 5.8 *	80

* : $P < 0.05$ 、** : $P < 0.01$ は対照群に対する有意差を示す。

薬理試験例 11 覚醒下モルモットのアセチルコリン吸入による気道収縮反応に対する抑制作用

正常モルモットに0.5%のアセチルコリンを10連式ネブライザー（チェスト、アニマルアスト TMC-2100）を用いて1分間吸入することにより気道収縮反応を惹起した。気道収縮の測定は薬理試験例 10と同様に行った。アセチルコリンによる気道収縮は約3時間間隔で2回行い、実施例 2と同様の方法で合成した化合物およびサルブタモールは2回目のアセチルコリン吸入直前に10連式ネブライザー（チェスト、アニマルアスト TMC-2100）を用いて1分間吸入投与した。アセチルコリン吸入による気道収縮反応に対する被験化合物の抑制活性は以下の式によって求めた。

アセチルコリン吸入による気道収縮反応の抑制活性(%) = $[(A - B) / A] \times 100$

A : 1回目のアセチルコリン吸入後の呼吸流量の減少率

B : 2回目のアセチルコリン吸入後の呼吸流量の減少率

結果は表 9 に示される通りであった。4-ヒドロキシ-7-[1-(1-ヒドロキシ-2-メチルアミノ)エチル]-1,3-ベンゾチアゾール-2(3H)-オンは、サルブタモールと比較して、極めて強い気管支拡張作用を有していた。

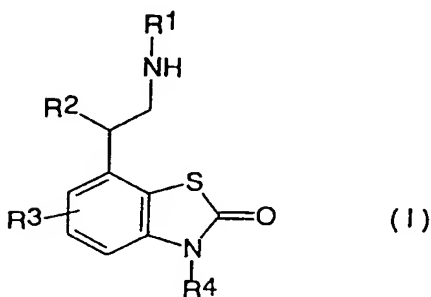
表 9

被験化合物	n	用量 $\mu\text{g}/\text{ml}$	呼吸流量 (%) mean \pm S. E.	抑制率 (%)
対照群	10	—	10.1 \pm 8.3	—
実施例2の化合物	10	1	26.1 \pm 7.4	18
実施例2の化合物	10	3	35.7 \pm 13.3	28
実施例2の化合物	10	10	57.1 \pm 9.5 **	52
実施例2の化合物	10	30	75.6 \pm 10.5 **	73
対照群	8	—	13.1 \pm 12.2	—
サルブタモール	8	10	14.9 \pm 17.1	2
サルブタモール	8	30	56.5 \pm 13.6	50
サルブタモール	8	100	69.9 \pm 11.1 *	65

* : $P < 0.05$ 、** : $P < 0.01$ は対照群に対する有意差を示す。

請求の範囲

1. 下記式 (I) の化合物またはその薬理学上許容される塩もしくは溶媒和物:

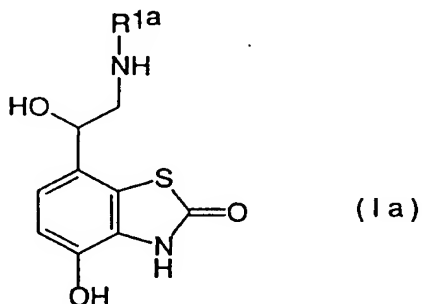


(上記式中、 R^1 は水素原子、または1以上のハロゲン原子、水酸基、シアノ基、ニトロ基、もしくはアミノ基により置換されていてもよい炭素数1~4のアルキル基、炭素数2~4のアルケニル基、もしくは炭素数2~4のアルキニル基を表し、 R^2 および R^3 は、同一または異なってもよく、水素原子、ハロゲン原子、水酸基、シアノ基、ニトロ基、アミノ基、または1以上のハロゲン原子、水酸基、シアノ基、ニトロ基もしくはアミノ基により置換されていてもよい炭素数1~4のアルコキシ基を表し、 R^4 は、水素原子、または1以上のハロゲン原子、水酸基、シアノ基、ニトロ基、もしくはアミノ基により置換されていてもよい炭素数1~4のアルキル基を表すが、但し、 R^1 、 R^2 および R^4 が水素原子を表し、かつ R^3 が水素原子、4-水酸基、または4-メトキシ基を表す場合、 R^1 がメチル基を表し、 R^2 および R^4 が水素原子を表し、かつ R^3 が4-水酸基を表す場合、並びに R^1 がn-プロピル基を表し、かつ R^2 、 R^3 および R^4 が水素原子を表す場合を除く)。

2. R^1 が、水素原子、または1以上のハロゲン原子、水酸基、シアノ基、

ニトロ基、もしくはアミノ基により置換されていてもよい炭素数1～4のアルキル基を表わし、 R^2 が水酸基を表し、 R^3 が、水素原子、ハロゲン原子、水酸基、または1以上のハロゲン原子により置換されていてもよい炭素数1～4のアルコキシ基を表し、 R^4 が、水素原子、または1以上のハロゲン原子により置換されていてもよい炭素数1～4のアルキル基を表す請求項1に記載の化合物。

3. 下記式(Ia)の化合物またはその薬理学上許容される塩もしくは溶媒和物：



(上記式中、 R^{1a} は水素原子、または1以上のハロゲン原子、水酸基、シアノ基、ニトロ基、もしくはアミノ基により置換されていてもよい炭素数1～4のアルキル基を表わす)。

4. R^{1a} が水素原子または1以上のハロゲン原子により置換されていてもよい炭素数1～4のアルキル基である、請求項3に記載の化合物。

5. 4-ヒドロキシ-7-[1-(1-ヒドロキシ-2-メチルアミノ)エチル]-1,3-ベンゾチアゾール-2(3H)-オンまたはその薬理学上許容される塩もしくは溶媒和物。

6. 請求項1～5のいずれか一項に記載の化合物またはその薬理学上許容する塩もしくは溶媒和物を含む、医薬組成物。

7. 気管支喘息、喘息性気管支炎、肺気腫、気管支炎、および急性気管支炎

から選択される呼吸器系疾患の治療に用いられる、請求項6に記載の医薬組成物。

8. 急性気管支喘息の治療に用いられる、請求項6に記載の医薬組成物。

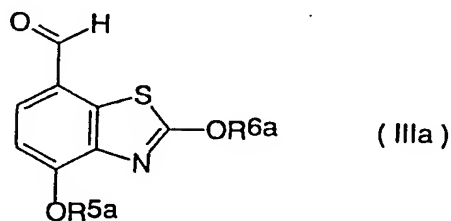
9. 吸入用粉末剤の形態である、請求項6に記載の医薬組成物。

10. アレルギー性喘息、アレルギー性鼻炎、アレルギー性皮膚炎、気管支喘息、蕁麻疹、掻痒、アレルギー性結膜炎、およびアナフィラキシーから選択されるアレルギー性疾患の治療に用いられる、請求項6に記載の医薬組成物。

11. 気管支炎および急性気管支炎から選択される炎症性疾患の治療に用いられる、請求項6に記載の医薬組成物。

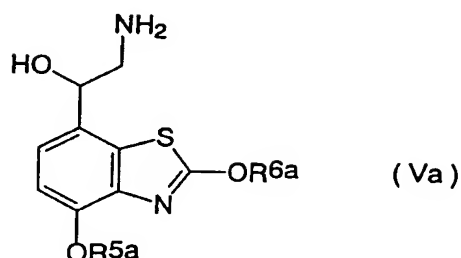
12. 請求項1～5のいずれか一項に記載の化合物またはその薬理学上許容しうる塩もしくは溶媒和物を含む、気道または気管支拡張剤。

13. 下記式(III a)の化合物：



(上記式中、 R^{5a} および R^{6a} は、同一または異なっていてもよく、水素原子、1以上のハロゲン原子により置換されていてもよい炭素数1～4のアルキル基、アセチル基、トリフルオロアセチル基、ベンゾイル基、ピバロイル基、メトキシカルボニル基、ベンジル基、パラメトキシベンジル基、メトキシメチル基、*t*-ブチルジメチルシリル基、またはトリイソプロピルシリル基を表す)。

14. 下記式 (Va) の化合物：



(上記式中、 R^{5a} および R^{6a} は、同一または異なってもよく、水素原子、1以上のハロゲン原子により置換されていてもよい炭素数1～4のアルキル基、アセチル基、トリフルオロアセチル基、ベンゾイル基、ピバロイル基、メトキシカルボニル基、ベンジル基、パラメトキシベンジル基、メトキシメチル基、*t*-ブチルジメチルシリル基、またはトリイソプロピルシリル基を表す)。

15. 気管支喘息、喘息性気管支炎、肺気腫、気管支炎、および急性気管支炎からなる群から選択される呼吸器系疾患の治療用薬剤の製造のための、請求項1～5のいずれか一項に記載の化合物の使用。

16. アレルギー性喘息、アレルギー性鼻炎、アレルギー性皮膚炎、気管支喘息、蕁麻疹、掻痒、アレルギー性結膜炎、およびアナフィラキシーからなる群から選択されるアレルギー性疾患の治療用薬剤の製造のための、請求項1～5のいずれか一項に記載の化合物の使用。

17. 気管支炎および急性気管支炎からなる群から選択される炎症性疾患の治療用薬剤の製造のための、請求項1～5のいずれか一項に記載の化合物の使用。

18. 請求項1～5のいずれか一項に記載の化合物またはその薬理学上許容される塩もしくは溶媒和物の有効量を薬学上許容される担体とともに哺乳類に投与することを含む、気管支喘息、喘息性気管支炎、肺気腫、気管支炎、および急

性気管支炎からなる群から選択される呼吸器系疾患の治療法。

19. 請求項1～5のいずれか一項に記載の化合物またはその薬理学上許容される塩もしくは溶媒和物の有効量を薬学上許容される担体とともに哺乳類に投与することを含む、アレルギー性喘息、アレルギー性鼻炎、アレルギー性皮膚炎、気管支喘息、蕁麻疹、掻痒、アレルギー性結膜炎、およびアナフィラキシーからなる群から選択されるアレルギー性疾患の治療法。

20. 請求項1～5のいずれか一項に記載の化合物またはその薬理学上許容される塩もしくは溶媒和物の有効量を薬学上許容される担体とともに哺乳類に投与することを含む、気管支炎および急性気管支炎からなる群から選択される炎症性疾患の治療法。

1 / 6

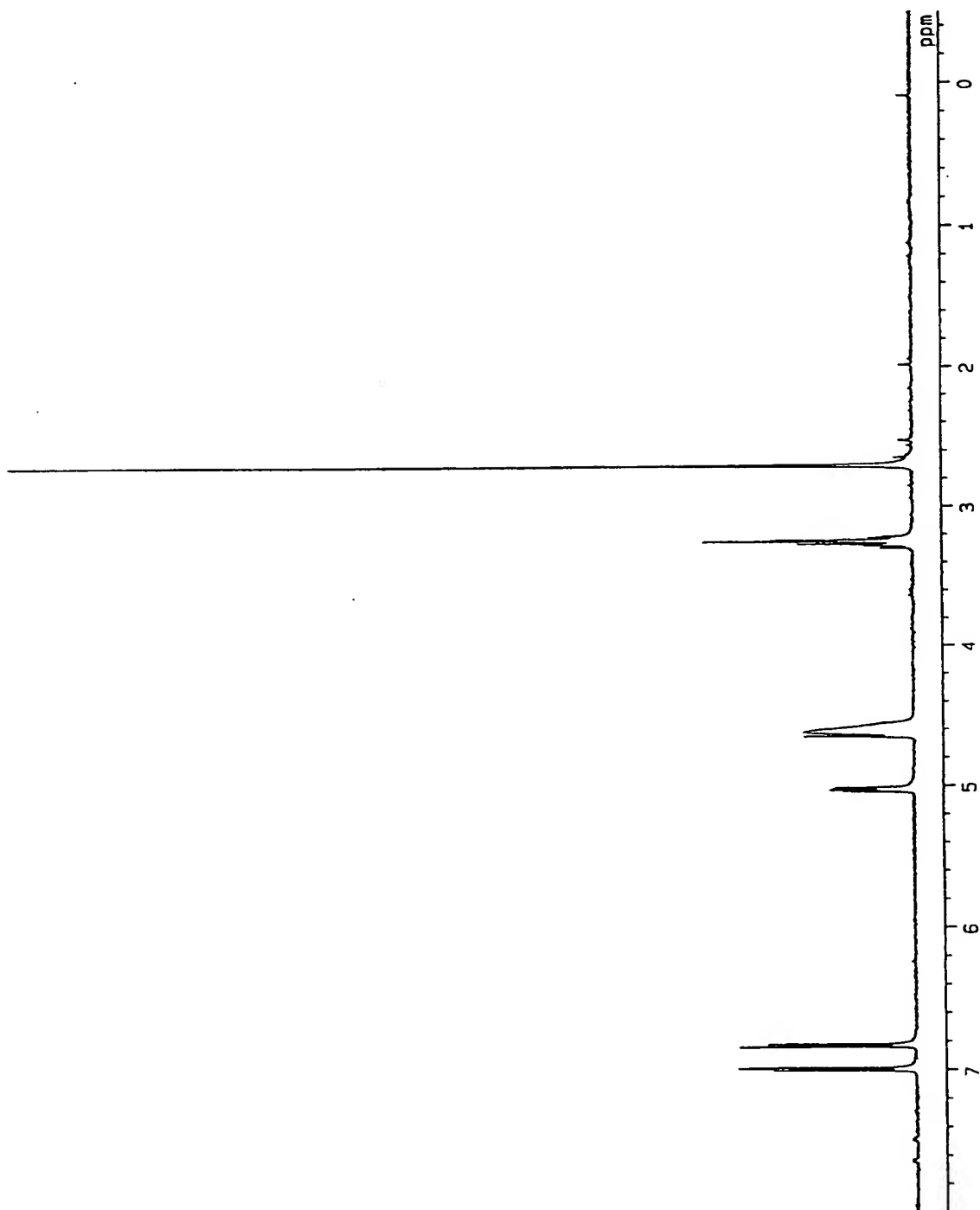


FIG. 1

2 / 6

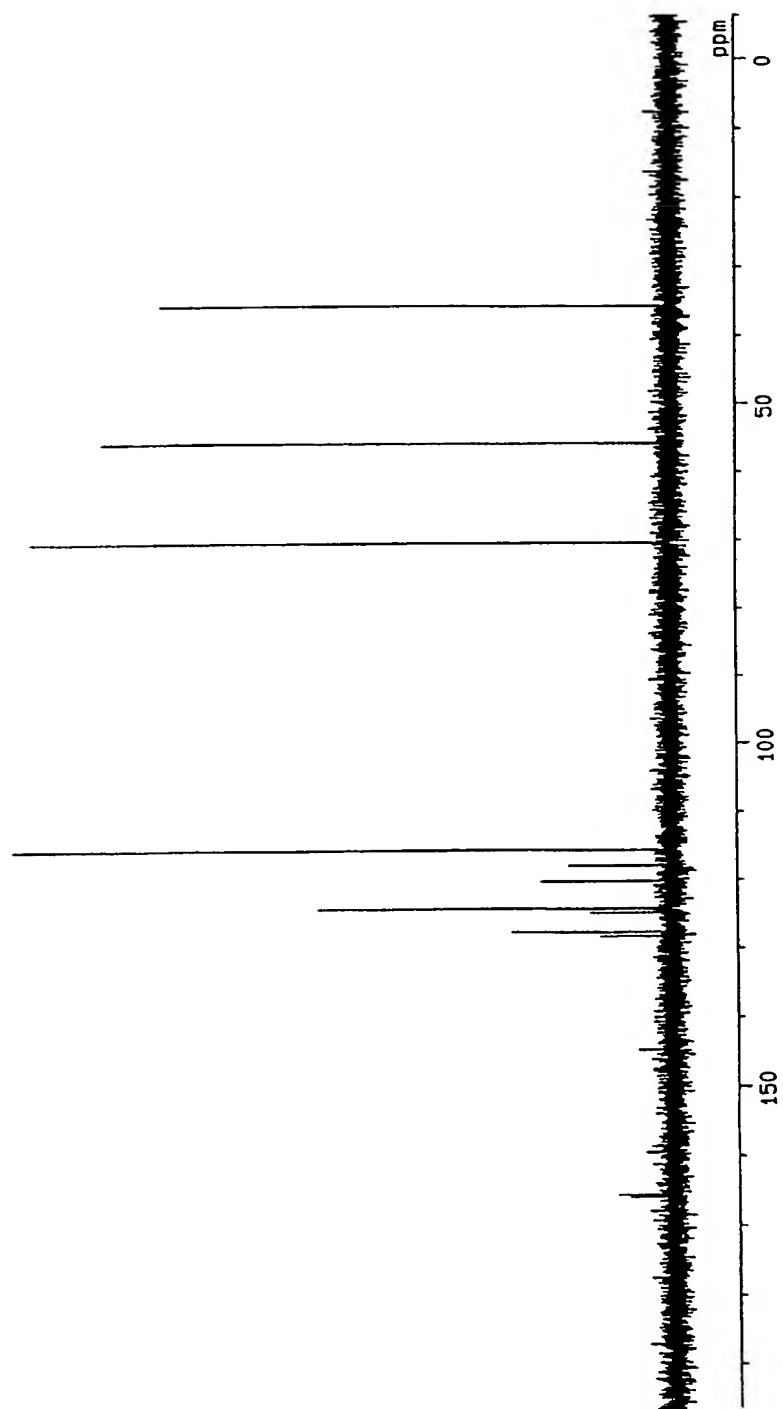


FIG. 2

3/6

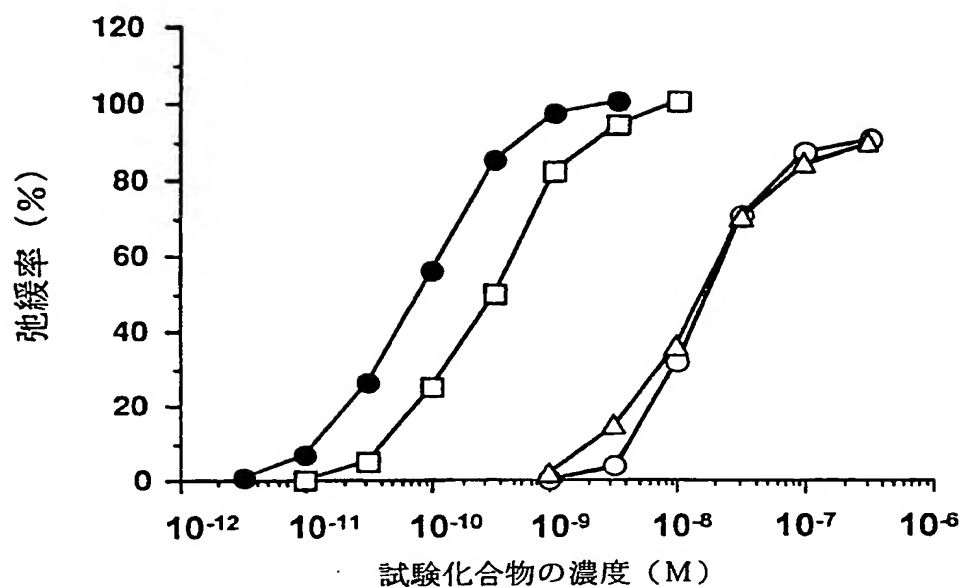


FIG. 3

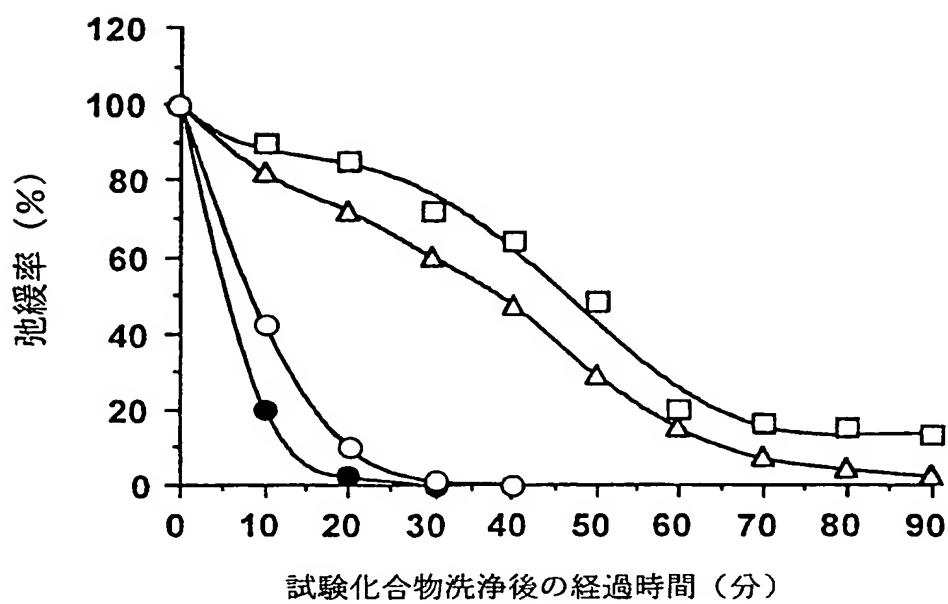


FIG. 4

4 / 6

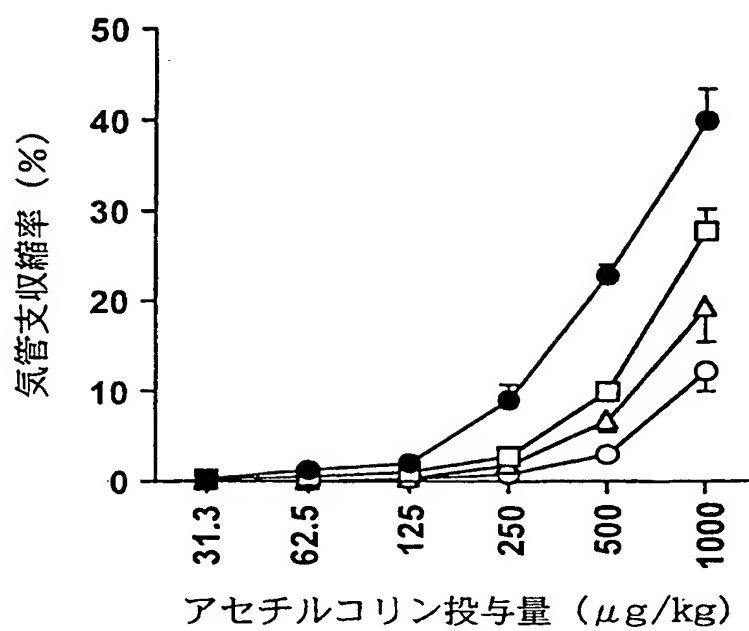


FIG. 5

5/6

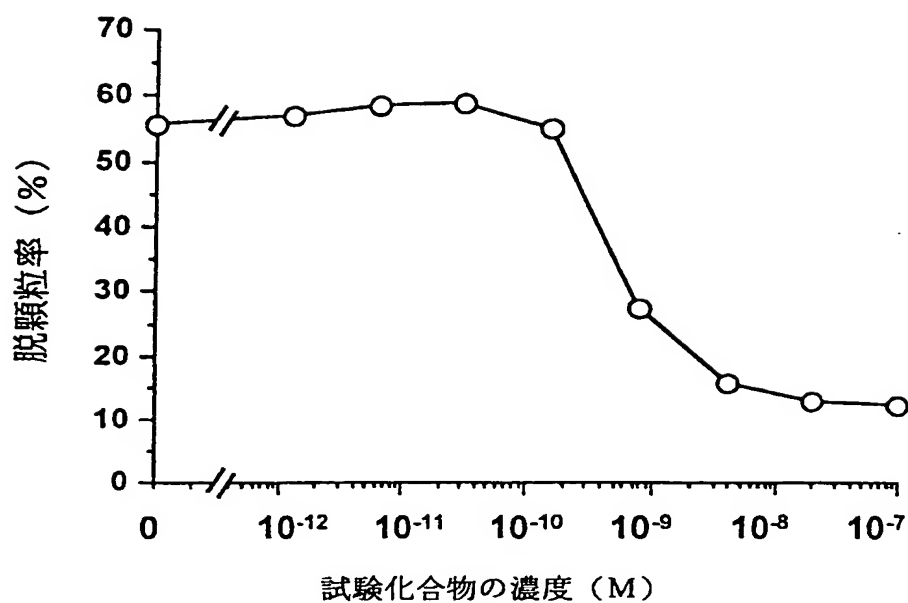


FIG. 6

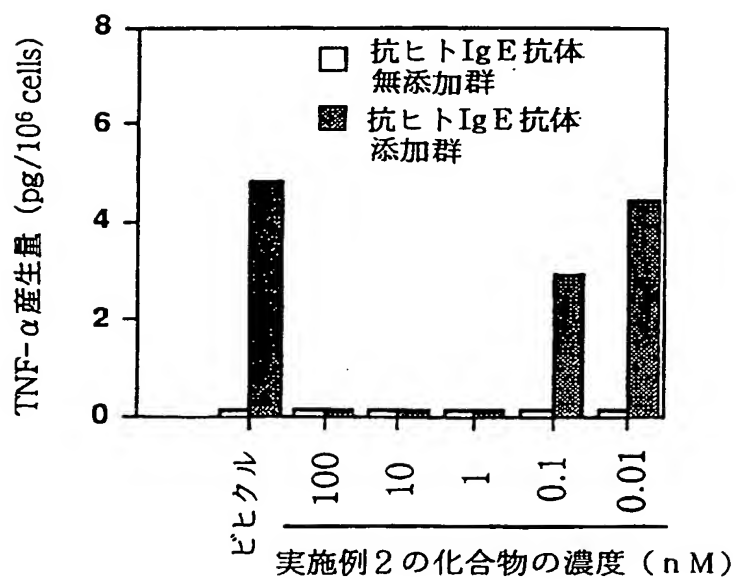


FIG. 7

6 / 6

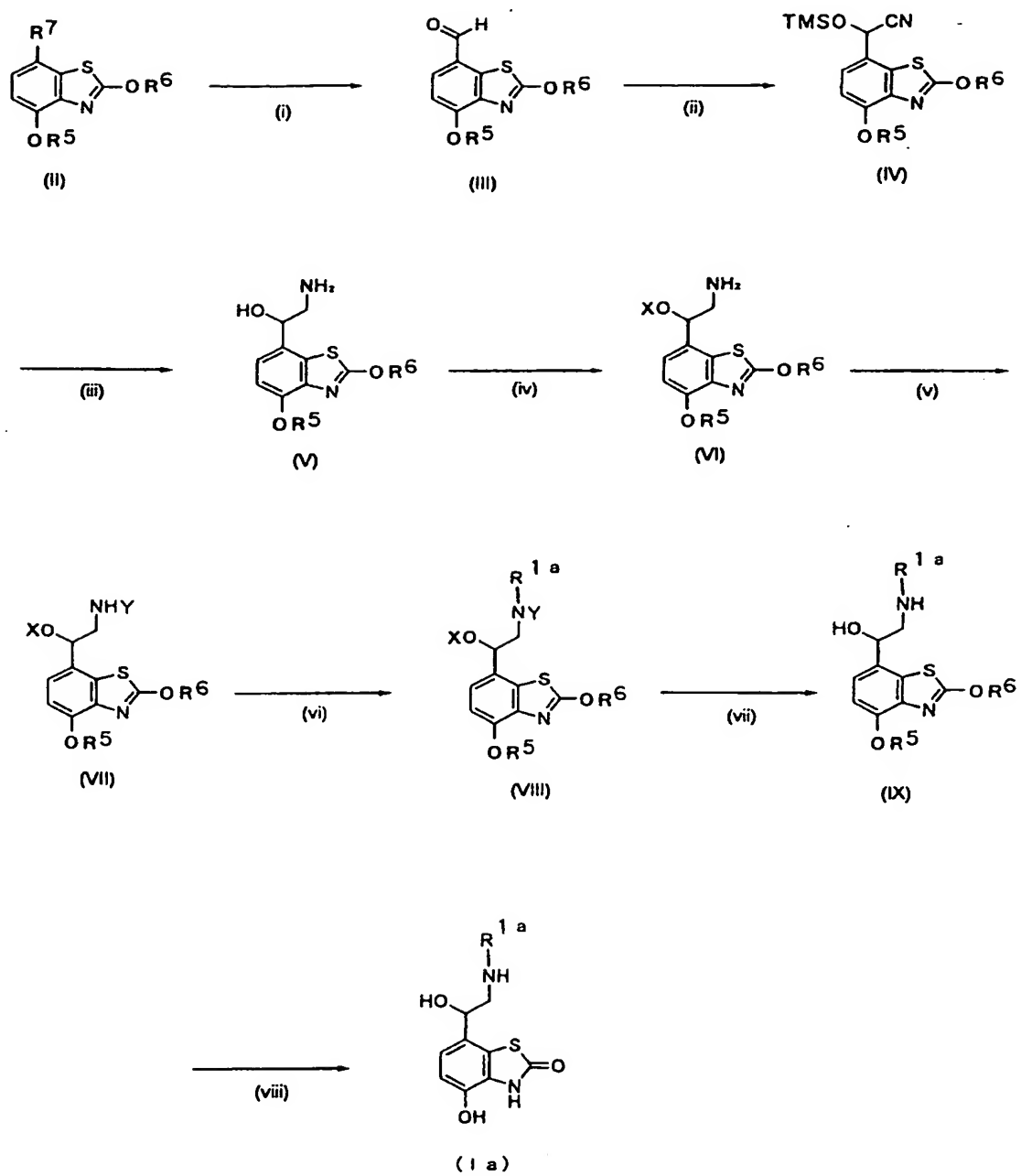


FIG. 8

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP98/03628

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER Int.Cl ⁶ C07D277/68, A61K31/425		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) Int.Cl ⁶ C07D277/60-277/82, A61K31/425		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) CAPLUS (STN), REGISTRY (STN), WPIDS (STN)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO, 95/25104, A1 (SMITHKLINE BEECHAM PLC), 21 September, 1995 (21. 09. 95) & EP, 750617, A1 & US, 5750701, A & JP, 90512786, A	1-17
A	WO, 97/23470, A1 (ASTRA AKTIEBOLAG), 3 July, 1997 (03. 07. 97) & ZA, 9610354, A & AU, 9714025, A & NO, 9802927, A	1-17
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 12 October, 1998 (12. 10. 98)		Date of mailing of the international search report 20 October, 1998 (20. 10. 98)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office		Authorized officer
Facsimile No.		Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP98/03628

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 18-20
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Claims 18 to 20 pertain to methods for treatment of the human body by therapy.
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

国際調査報告

国際出願番号 PCT/J P 98/03628

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))
Int. Cl⁶ C 07 D 277/68, A 61 K 31/425

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁶ C 07 D 277/60-277/82, A 61 K 31/425

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)
CAPLUS (STN), REGISTRY (STN), WPIDS (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	WO, 95/25104, A1 (SMITHKLINE BEECHAM PLC), 21. 9月. 1995 (21. 09. 95), & EP, 750617, A1, & US, 5750701, A, & JP, 90512786, A	1-17
A	WO, 97/23470, A1 (ASTRA AKTIEBOLAG), 3. 7月. 1997 (03. 07. 97), & ZA, 9610354, A, & AU, 9714025, A, NO, 9802927, A	1-17

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」 先行文献ではあるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

12. 10. 98

国際調査報告の発送日

20.10.98

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

田村 聖子 印

4 C

9736

電話番号 03-3581-1101 内線 3452

第Ⅰ欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見（第１ページの１の続き）

法第８条第３項（PCT 17条(2)(a)）の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☒ 請求の範囲 18-20 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。
つまり、
請求の範囲18ないし20は、人間の身体の治療による処置方法である。
2. ☐ 請求の範囲 は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求の範囲 は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第２文及び第３文の規定に従って記載されていない。

第Ⅱ欄 発明の単一性が欠如しているときの意見（第１ページの２の続き）

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとこの国際調査機関は認めた。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。